

Centre National de Référence
virus des gastro-entérites

Volet scientifique	2023 - 2027
<i>Bilan d'activité</i>	<i>2017 - 2021</i>



RÉSUMÉ ANALYTIQUE

1. L'ÉQUIPE DU CNR DES VIRUS DES GASTRO-ENTÉRITES

Le CNRvge est localisé dans le laboratoire de virologie du CHU Dijon Bourgogne. Il y bénéficie d'une autonomie administrative (UF spécifiques) mais mutualise locaux et équipements au sein du pôle de biologie. Son responsable pour le prochain mandat 2023-2027 sera de nouveau le Professeur Alexis de ROUGEMONT. L'activité de ce CNR sera assurée par 4 biologistes médicaux (1,4 ETP), 2 biologistes scientifiques (1,4 ETP), 6 techniciens (3,9 ETP) et 1 secrétaire (0,8 ETP).

2. LES MISSIONS ET LE CONTEXTE

Le CNR a des missions d'expertise, de conseil, de surveillance et d'alerte en lien avec Santé Publique France (SPF) dans le domaine des gastro-entérites virales. En France comme en Europe, les gastro-entérites virales posent surtout un problème de morbidité, mais qui est polymorphe car deux virus en sont les principaux agents : les rotavirus et les norovirus. Trois groupes de patients sont principalement concernés par ces infections : les enfants pour le rotavirus et les personnes âgées vivant en collectivités (EHPAD surtout) pour les norovirus, et enfin les immunodéprimés. Ces infections surviennent régulièrement en période hivernale ou bien par épidémies brutales (cas groupés) lors de contaminations alimentaires ou hydriques.

3. PRINCIPAUX RÉSULTATS DURANT LA PÉRIODE 2017-2021 ET OBJECTIFS POUR 2023-2027

Dans ce contexte, le CNR des virus des gastro-entérites a concentré ses actions autour de 3 objectifs principaux : l'expertise virologique à apporter à la communauté médicale, la surveillance des gastro-entérites infantiles à rotavirus et les gastro-entérites épidémiques en EHPA.

3.1 ACTIVITÉS D'EXPERTISE VIROLOGIQUE

Évaluation des réactifs : afin de diffuser une information précise sur les trousse de diagnostic des infections virales entériques, nous avons évalué les principaux kits commerciaux immunochromatographiques triplex et de biologie moléculaire pour les norovirus et rotavirus, les multiplex ou panel GI.

Investigations virologiques chez les immunodéprimés : déterminer l'étiologie virale et/ou suivre les infections à norovirus chez un patient sous traitements immunosuppresseurs ; chez les enfants SCID présentant un déficit immunitaire sévère ayant fait une diarrhée chronique après vaccination Rotarix.

Qualification des dons pour transplantation de microbiote fécale (TMF) :

3.2 GASTROENTÉRITES INFANTILES À ROTAVIRUS

Les vaccins anti-rotavirus sont efficaces vis-à-vis des souches les plus répandues en Europe ; leur efficacité vis-à-vis des souches inhabituelles est plus incertaine. Afin de pouvoir apprécier l'impact de la vaccination sur l'évolution ou l'émergence des génotypes du rotavirus, le CNR réalise une surveillance moléculaire depuis 2006. Les principaux résultats au cours du dernier mandat sont : une **prédominance du génotype G9**, une **émergence du génotype G3 « equine-like »**, une **faible circulation des génotypes G1, G2 et G12**, une disparition du génotype G4, une grande variabilité géographique de tous ces génotypes. Les points à vérifier pour les prochaines années sont l'éventuelle émergence du génotype G8P[8] et la sélection du génotype G2P[4] sous l'effet de la pression vaccinale par le vaccin monovalent Rotarix™.

3.3 LES GASTRO-ENTÉRITES ÉPIDÉMIQUES EN EHPA(D) OU « CAS GROUPÉS » DE GASTRO-ENTÉRITES

Le CNR des virus des gastro-entérites en collaboration avec SPF, les CIRE et les ARS réalise les investigations virologiques s'intégrant dans la prise en charge épidémiologique globale de ces épidémies. Les principaux résultats obtenus entre 2017-2021 montrent :

- les **norovirus GII.4** restent les principaux responsables de ces épidémies. **Ce génotype se caractérise par une étonnante capacité évolutive** avec l'apparition d'un nouveau variant à l'origine de nouvelles épidémies tous les 3 à 4 ans. **Nous avons observé l'émergence de nouveaux variants : GII.4 SydneyP[16] et GII.2[P16]**. Après son émergence en 2015, le **génotype GII.17 continue de circuler à des fréquences plus faibles**.
- une étude prospective effectuée sur **sept années consécutives montre que les épidémies à norovirus représentent une charge importante pour les établissements de long séjour**. Les problèmes que posent les norovirus dans ces structures nécessiteraient d'être évaluée sur le plan médico-économique.

4. BILAN

L'activité d'expertise et de surveillance du CNR a permis **l'analyse de 9337 échantillons de selles** dont 2841 provenant de 866 épidémies de cas groupés, 1872 provenant de 1526 patients immunodéprimés ou greffés, 1790 cas sporadiques de diarrhées aiguës, 111 selles de dons TMF et 2723 chez des enfants de moins de 5 ans présentant une GEA à rotavirus ; et **de caractériser 4716 virus** : 1259 norovirus, 2954 rotavirus et 503 autres virus.

Les travaux réalisés au CNR ont fait l'objet de **38 publications dans des journaux internationaux** à comité de lecture et 12 publications nationales depuis 2017.

2.4. DESCRIPTIF DES THÉMATIQUES DE RECHERCHE DU LABORATOIRE

2.4.1. Études épidémiologiques

Objectifs : 1) Mieux connaître la circulation des différents virus et souches virales dans la population. 2) Détecter l'apparition de nouveaux génotypes ou variants pour chaque virus, voire anticiper leur émergence en France.

2.4.1.1. Épidémiologie des virus des gastro-entérites chez les animaux

Objectifs : Mieux connaître les virus entériques circulant chez les animaux afin de mieux détecter ces virus chez l'homme et mieux comprendre les mécanismes de transmission de l'animal à l'homme.

Publications significatives :

- *Molecular prevalence of bovine noroviruses and neboviruses in newborn calves in Iran.* F Pourasgari, J Kaplon, A Sanchooli, C Fremy, S Karimi-Naghlani, V Otarod, K Ambert-Balay, N Mojgani, P Pothier. *Arch Virol.* 2018 May; 163(5): 1271-1277.

2.4.1.2. Épidémiologie des virus des gastro-entérites en Afrique

Objectifs : Outre l'intérêt local, la connaissance des différents virus, génotype ou variants circulant en Afrique, représente un intérêt pour la France et l'Europe compte tenu des flux migratoires existants.

Publications significatives :

- *Dynamics of norovirus genotype change and early characterization of variants in children with diarrhea in central Tunisia, 2001-2012.* Sdiri-Loulizi K, Khachou A, Khelifi H, Ayouni S, Elhani D, Ambert-Balay K, Rhim A, Kaplon J, Aouni M, de Rougemont A. *Arch Virol.* 2022 Jan;167(1):99-107. doi: 10.1007/s00705-021-05290-w.
- *Prevalence and Genetic Diversity of Aichi Virus 1 from Urban Wastewater in Senegal.* Kebe O, Fernandez-Garcia MD, Fall A, Dia H, Bidalot M, Ambert-Balay K, Ndiaye K. *Intervirology.* 2021;64(2):96-101. doi: 10.1159/000512130.
- *The First Norovirus Longitudinal Seroepidemiological Study From Sub-Saharan Africa Reveals High Seroprevalence of Diverse Genotypes Associated With Host Susceptibility Factors.* Thorne L, Nalwoga A, Mentzer AJ, de Rougemont A, Hosmillo M, Webb E, Nampijja M, Muhwezi A, Carstensen T, Gurdasani D, Hill AV, Sandhu MS, Elliott A, Goodfellow I. *J Infect Dis.* 2018 Jul 24;218(5):716-725. doi: 10.1093/infdis/jiy219.
- *Detection of Sapoviruses in two biological lines of Tunisian hospital wastewater treatment.* C Ibrahim, S Hammami, N Chérif, S Mejri, P Pothier, A Hassen. *Int J Environ Health Res.* 2018 Nov 26: 1-14.
- *Molecular detection and genotypic characterization of enteric adenoviruses in a hospital wastewater.* C Ibrahim, A Hassen, P Pothier, S Mejri, S Hammami. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018 Apr; 25(11): 10977-10987.

2.4.1.3. Épidémiologie des virus des gastro-entérites en France et en Europe

Objectifs généraux:

- 1) Suivre l'évolution des souches virales (norovirus et rotavirus), l'émergence éventuelle de nouvelles souches et interpréter nos résultats dans le contexte des réseaux européens et mondiaux.
- 2) Mieux définir les caractéristiques des gastro-entérites virales communautaires et en institutions (EHPAD) en collaboration avec les épidémiologistes

Objectifs spécifiques :

- épidémiologie moléculaire des norovirus et évolution des souches.
- épidémiologie moléculaire des rotavirus, surveillance avant et pendant la vaccination au niveau européen.
- épidémiologie des gastro-entérites virales en milieu gériatrique.
- influence des facteurs climatiques sur la pathogénicité des norovirus.
- études chez les immunodéprimés

Publications significatives :

- *Large concomitant outbreaks of acute gastroenteritis emergency visits in adults and food-borne events suspected to be linked to raw shellfish, France, December 2019 to January 2020.* Anne Fouillet, Nelly Fournet, Cécile Forgeot, Gabrielle Jones, Alexandra Septfons, Léa Franconeri, Katia Ambert-Balay, Jeannot Schmidt, Patrick Guérin, Henriette de Valk, Céline Caserio-Schönemann. *Euro Surveill.* 2020 Feb;25(7):2000060. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.7.2000060.

- **Gastroenteritis and respiratory infection outbreaks in French nursing homes from 2007 to 2018: Morbidity and all-cause lethality according to the individual characteristics of residents.** Gaspard P, Mosnier A, Simon L, Ali-Brandmeyer O, Rabaud C, Larocca S, Heck B, Aho-Glélé S, Pothier P, Ambert-Balay K. *PLoS One*. 2019 Sep 24;14(9):e0222321. doi: 10.1371/journal.pone.0222321. eCollection 2019.
- **Pathology of Rotavirus-driven Multiple Organ Failure in a 16-month-old Boy.** Tarris G, Belliot G, Callier P, Huet F, Martin L, de Rougemont A. *Pediatr Infect Dis J*. 2019 Dec;38(12):e326-e328. doi: 10.1097/INF.0000000000002472.
- **Global Review of the Age Distribution of Rotavirus Disease in Children Aged <5 Years Before the Introduction of Rotavirus Vaccination.** M Hasso-Agopsowicz, CN Ladva, B Lopman, C Sanderson, AL Cohen, JE Tate, X Riveros, AM Henao-Restrepo, A Clark; Global Rotavirus Surveillance Network and Rotavirus Age Study Collaborators. *Clin Infect Dis*, 2019;69(6):1071-1078.
- **Predominance of G9P[8] rotavirus strains throughout France, 2014-2017.** Kaplon J, Grangier N, Pillet S, Minoui-Tran A, Vabret A, Wilhelm N, Prieur N, Lazrek M, Alain S, Mekki Y, Foulongne V, Guinard J, Avettand-Fenoel V, Schnuriger A, Beby-Defaux A, Lagathu G, Pothier P, de Rougemont A. *Clin Microbiol Infect*. 2018 Jun;24(6):660.e1-660.e4. doi: 10.1016/j.cmi.2017.10.009. Epub 2017 Oct 21.
- **Molecular surveillance of norovirus, 2005-16: an epidemiological analysis of data collected from the NoroNet network.** J van Beek, M de Graaf, H Al-Hello, DJ Allen, K Ambert-Balay, N Botteldoorn, M Brytting, J Buesa, M Cabrerizo, M Chan, F Cloak, I Di Bartolo, S Guix, J Hewitt, N Iritani, M Jin, R Johne, I Lederer, J Mans, V Martella, L Maunula, G McAllister, S Niendorf, HG Niesters, AT Podkolzin, M Poljsak-Prijatelj, LD Rasmussen, G Reuter, G Tuite, A Kroneman, H Vennema, Koopmans MPG. *Lancet Infect Dis*. 2018 May; 18(5): 545-553.
- **Secular trends in incidence of acute gastroenteritis in general practice, France, 1991 to 2015.** M Rivière, N Baroux, V Bousquet, K Ambert-Balay, P Beaudeau, N Jourdan-Da Silva, D Van Cauteren, F Bounoure, F Cahuzac, T Blanchon, T Prazuck, C Turbelin, T Hanslik. *Euro Surveill*, 2017, 22.
- **Predominance of G9P[8] rotavirus strains throughout France, 2014-2017.** J Kaplon, N Grangier, S Pillet, A Minoui-Tran, A Vabret, N Wilhelm, N Prieur, M Lazrek, S Alain, Y Mekki, V Foulongne, J Guinard, V Avettand-Fenoel, A Schnuriger, A Beby-Defaux, G Lagathu, P Pothier, A de Rougemont. *Clin Microbiol Infect*, 2017.
- **Viral prevalence and laboratory investigations of gastroenteritis in institutions for dependent people.** P Gaspard, P Pothier, C Roth, S Larocca, B Heck, K Ambert-Balay. *Med Mal Infect*, 2017, 47, 546-553.
- **Emergence of new recombinant noroviruses GII.p16-GII.4 and GII.p16-GII.2, France, winter 2016 to 2017.** M Bidalot, L Théry, J Kaplon, A de Rougemont, K Ambert-Balay. *Euro Surveill*, 2017, 22.

2.4.2. Virus entériques et contaminations environnementales et alimentaires

Objectifs : L'environnement et les aliments sont des vecteurs des virus entériques. Nos recherches tentent :

- 1) de déterminer l'importance de cette contamination afin de préciser le risque de contamination et,
- 2) d'évaluer ou mettre au point des techniques de traitement adaptées aux différentes matrices.

Publications significatives :

- **Free Chlorine and Peroxynitrite Alter the Capsid Structure of Human Norovirus GII.4 and Its Capacity to Bind Histo-Blood Group Antigens.** Chassaing M, Bastin G, Robin M, Majou D, Belliot G, de Rougemont A, Boudaud N, Gantzer C. *Front Microbiol*. 2021 Apr 13;12:662764. doi: 10.3389/fmicb.2021.662764.
- **The effect of proteolytic enzymes and pH on GII.4 norovirus, during both interactions and non-interaction with Histo-Blood Group Antigens.** Chassaing M, Robin M, Loutreul J, Majou D, Belliot G, de Rougemont A, Boudaud N, Gantzer C. *Sci Rep*. 2020 Oct 21;10(1):17926. doi: 10.1038/s41598-020-74728-z.
- **Interaction between norovirus and Histo-Blood Group Antigens: A key to understanding virus transmission and inactivation through treatments?** Chassaing M, Boudaud N, Belliot G, Estienney M, Majou D, de Rougemont A, Gantzer C. *Food Microbiol*. 2020 Dec;92:103594. doi: 10.1016/j.fm.2020.103594. Epub 2020 Jul 14.
- **Vomiting symptom of acute gastroenteritis estimated from epidemiological data can help predict river contamination by human pathogenic enteric viruses.** Tesson V, Belliot G, Estienney M, Wurtzer S, Renault P. *Environ Int*. 2019 Feb;123:114-123. doi: 10.1016/j.envint.2018.11.058. Epub 2018 Nov 30.
- **Seasonal and spatial dynamics of enteric viruses in wastewater and in riverine and estuarine receiving waters.** K Farkas, DM Cooper, JE McDonald, SK Malham, A de Rougemont, DL Jones. *Sci Total Environ*, 2018 Sep 1;634:1174-1183.

- **Modelling the removal and reversible immobilization of murine noroviruses in a phaeozem under various contamination and rinsing conditions.** V Tesson, A de Rougemont, L Capowiez, P Renault. *Eur J Soil Sci*, 2018 November; 69, 1068–1077.
- **Norovirus GII.17 Outbreak Linked to an Infected Post-Symptomatic Food Worker in a French Military Unit Located in France.** MA Sanchez, SP Corcostégué, CA De Broucker, O Cabre, S Watier-Grillot, S Perelle, K Ambert-Balay, V Pommier de Santi. *Food Environ Virol*, 2017, 9, 234-237
- **Detection of Aichi virus genotype B in two lines of wastewater treatment processes.** C Ibrahim, S Hammami, S Mejri, I Mehri, P Pothier, A Hassen. *Microb Pathog*, 2017, 109, 305-312.

2.4.3. Caractérisation de nouveaux virus dans les selles par métagénomique

Objectifs : Outre l'intérêt phylogénétique, cette recherche nous a permis de caractériser de nouveaux virus ou génotypes viraux dont la pathogénicité reste à définir pour la plupart.

Publications significatives :

- **Divergent gyroviruses in the feces of Tunisian children.** Gia Phan T, Phung Vo N, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, Pothier P, Ambert-Balay K, Deng X, Delwart E. *Virology*. 2013 Nov;446 (1-2) : 346-8.
- **New parvovirus in child with unexplained diarrhea, Tunisia.** Phan TG, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, Ambert-Balay K, Pothier P, Deng X, Delwart E. *Emerg Infect Dis*. 2014 Nov;20(11):1911-3.
- **A new gyrovirus in human feces.** Phan TG, da Costa AC, Zhang W, Pothier P, Ambert-Balay K, Deng X, Delwart E. *Virus Genes*. 2015 Aug;51(1):132-5.
- **A diverse group of small circular ssDNA viral genomes in human and non-human primate stools.** Ng TFF, Zhang W, Sachsenroder J, Kondov NO, da-Costa AC, Vega E, Holtz LR, Wu G, Wang D, Stine OC, Antonio M, Mulvaney US, Muench MO, Deng X, Ambert-Balay K, Pothier P, Vinje J, Delwart E. *Virus Evolution* 2015 1 (1): vev017.

2.4.4. Pathologies lourdes et relations des rotavirus et des norovirus avec antigènes de groupe sanguins

Objectifs : Comprendre les mécanismes d'attachement et d'internalisation de ces deux virus et en évaluer les conséquences physiologiques dans le cadre de pathologies lourdes.

Publications significatives :

- **Epidemiological Impact of GII.17 Human Noroviruses Associated With Attachment to Enterocytes.** Estienney M, Tarris G, Abou-Hamad N, Rouleau A, Boireau W, Chassagnon R, Ayouni S, Daval-Frerot P, Martin L, Bouyer F, Le Pendu J, de Rougemont A, Belliot G. *Front Microbiol*. 2022 Apr 27;13:858245. doi: 10.3389/fmicb.2022.858245.
- **Enteric Viruses and Inflammatory Bowel Disease.** Tarris G, de Rougemont A, Charkaoui M, Michiels C, Martin L, Belliot G. *Viruses*. 2021 Jan 13;13(1):104. doi: 10.3390/v13010104.
- **Specific Norovirus Interaction with Lewis x and Lewis a on Human Intestinal Inflammatory Mucosa during Refractory Inflammatory Bowel Disease.** Tarris G, de Rougemont A, Estienney M, Charkaoui M, Mouillot T, Bonnotte B, Michiels C, Martin L, Belliot G. *mSphere*. 2021 Jan 13;6(1):e01185-20. doi: 10.1128/mSphere.01185-20.
- **Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study.** Harry Sokol, Cecilia Landman, Philippe Seksik, Laurence Berard, Mélissa Montil, Isabelle Nion-Larmurier, Anne Bourrier, Guillaume Le Gall, Valérie Laland, Alexis De Rougemont, Julien Kirchgesner, Anne Daguanel, Marine Cachanado, Alexandra Rousseau, Élodie Drouet, Michelle Rosenzweig, Hervé Hagege, Xavier Dray, David Klatzman, Philippe Marteau, Saint-Antoine IBD Network; Laurent Beaugerie, Tabassome Simon. *Microbiome*. 2020 Feb 3;8(1):12. doi: 10.1186/s40168-020-0792-5.
- **Effect of natural ageing and heat treatments on GII.4 norovirus binding to Histo-Blood Group Antigens.** Robin M, Chassaing M, Loutreul J, de Rougemont A, Belliot G, Majou D, Gantzer C, Boudaud N. *Sci Rep*. 2019 Oct 25;9(1):15312. doi: 10.1038/s41598-019-51750-4.

2.4.5. Études technologiques et appliquées

Objectifs : 1) évaluer les tests de détection mis sur le marché et 2) développer de nouvelles techniques en collaboration avec des industriels ou des équipes académiques ayant des compétences complémentaires aux nôtres.

Publications significatives :

- **Use of a Hydrogen Peroxide Nebulizer for Viral Disinfection of Emergency Ambulance and Hospital Waiting Room.** Estienney M, Daval-Frerot P, Aho-Glélé LS, Piroth L, Stabile P, Gerbet JY, Rouleau R, de Rougemont A, Belliot G. *Food Environ Virol.* 2022 Mar 20:1-5. doi: 10.1007/s12560-022-09519-y.
- **Diagnostic Accuracy of Four Commercial Triplex Immunochromatographic Tests for Rapid Detection of Rotavirus, Adenovirus, and Norovirus in Human Stool Samples.** Kaplon J, Théry L, Bidalot M, Grangier N, Frappier J, Aho Glélé LS, de Rougemont A, Ambert-Balay K. *J Clin Microbiol.* 2020 Dec 17;59(1):e01749-20. doi: 10.1128/JCM.01749-20.
- **Diagnostic accuracy of VIKIA® Rota-Adeno and Premier? Rotaclone® tests for the detection of rotavirus in Niger.** A Lagare, A Moumouni, J Kaplon, C Langendorf, P Pothier, RF Grais, B Issaka, AL Page. *BMC Res Notes*, 2017, 10, 505.
- **A Biocatalytic Nanomaterial for the Label-Free Detection of Virus-Like Particles.** S Sykora, MR Corroero, N Moridi, G Belliot, P Pothier, Y Dudal, PF Corvini, P Shahgaldian. *Chembiochem*, 2017, 18, 996-1000
- **HS-AFM and SERS Analysis of Murine Norovirus Infection: Involvement of the Lipid Rafts.** EN Aybeke, G Belliot, S Lemaire-Ewing, M Estienney, Y Lacroute, P Pothier, E Bourillot, E Lesniewska. *Small*, 2017, 13.
- **Evaluation of Two Triplex One-Step qRT-PCR Assays for the Quantification of Human Enteric Viruses in Environmental Samples.** K Farkas, DE Peters, JE McDonald, A de Rougemont, SK Malham, DL Jones. *Food Environ Virol*, 2017, 9, 342-349

2.5. CAPACITÉS TECHNIQUES DU LABORATOIRE

2.5.1. Techniques disponibles

2.5.1.1. Liste des techniques de référence disponibles

Nous disposons de toutes les techniques de **biologie moléculaire (PCR en point final, PCR en temps réel et séquençage)** permettant le diagnostic et la caractérisation génotypique dans les selles et diverses autres matrices (LCS, sang, biopsies, etc) des norovirus, sapovirus, rotavirus du groupe A, adénovirus, astrovirus humains et recombinants MLB/VA, virus Aichi, bocavirus ; et le diagnostic d'autres virus présents dans les fèces : virus des hépatites A et E, CMV, coronavirus SARS-CoV-2 et parechovirus.

Les analyses des séquences virales sont réalisées à l'aide de logiciels tels que « Codon Code Aligner » et la suite « Bionumerics » avec une base de données continuellement mise à jour où est enregistré toutes les souches caractérisées dans le cadre du réseau européen depuis 2002 ainsi que la GenBank, base de données internationale.

Nous utilisons des **techniques d'extraction automatisées par méthode de Boom** sur EasyMag/EMag® (Biomérieux) **optimisées pour l'extraction dans les selles des génomes des virus, des parasites et des bactéries en une seule prise d'essai, à des fins de (RT-)PCR, (RT-)qPCR en temps-réel, séquençages Sanger et NGS.**

Nous utilisons également des techniques de **PCR en temps réel** pour quantifier les **norovirus murins GV**, les **norovirus humains GI/GII**, les sapovirus et les **rotavirus A**. Ces techniques sont utilisées entre autres pour **quantifier les virus excrétés** dans les selles de **patients immunodéprimés comme les transplantés et cela afin d'adapter les traitements ou suivre la reconstitution immunologique.**

Nous disposons d'un accès aux **séquenceurs haut débit NGS** Illumina MiSeq/NextSeq®550 du service de génétique à la PBHU, et sommes en cours d'acquisition d'un NextSeq®1000 et de constitution d'une plateforme de métagénomique microbiologique. Les techniques ont été adaptées à la problématique particulière de la matrice fèces et des virus entériques pour le diagnostic des GEA pour lesquelles les qPCR virales classiques sont négatives, pour la caractérisation de nouveaux variants ou le génotypage complet des génomes de norovirus et rotavirus. Les techniques de diagnostic pan-viral dans les selles est en cours de développement.

Nous sommes en cours de **maîtrise des techniques complexes de culture des norovirus sur larves de poisson zèbre (*Danio rerio*)** et en cours d'acquisition des techniques de culture **sur entéroïdes.**

Nous maîtrisons les techniques de **culture cellulaire du norovirus murin sur cellules RAW.** Ce norovirus GV.1, très proche des norovirus humains, sert de substitut par exemple dans les évaluations des

désinfectants et des antiseptiques, ou la résistance des norovirus dans l'environnement, notamment hospitalier.

Nous disposons également de cultures de **certaines souches de rotavirus A humaines et animales**, et des anticorps monoclonaux.

Nous avons adapté à la culture cellulaire les souches de **virus Aichi** pour lesquelles nous avons aujourd'hui une collection des différentes souches et un stock d'antigène pour la réalisation de **tests sérologiques pour le virus Aichi**, permettant d'effectuer des enquêtes de prévalence.

Nous disposons de toutes les **techniques immunologiques (ELISA, cytométrie en flux, ELISPOT)** pour la détection des antigènes viraux ou réaliser des études sur la réponse immune aux infections entériques.

Par ailleurs, nous avons accès à un service de **microscopie électronique à transmission et à balayage** par une convention entre le CHU et l'INRAe de Dijon, d'un microscope de force atomique (AFM) et d'un Biacore pour l'évaluation de la résonance plasmonique de surface et l'affinité de l'interaction de des protéines.

À noter que toutes les techniques sont disponibles sur le site internet du CNRvge.

2.5.1.2. Principales procédures techniques disponibles (voir annexes)

- détection des adénovirus par qPCR en temps réel
- détection des virus Aichi par RT-qPCR en temps réel
- détection des astrovirus par RT-qPCR en temps réel (*en attente du COFRAC*)
- détection des bocavirus par qPCR en temps réel
- détection des coronavirus par RT-PCR en point final
- détection des rotavirus du groupe A par RT-qPCR en temps réel (*en attente du COFRAC*)
- géotypage des rotavirus groupe A par RT-qPCR one-step en point final
- détection des norovirus par RT-qPCR en temps réel (*accréditée COFRAC*)
- détection des sapovirus par RT-qPCR en temps réel (*en attente du COFRAC*)

2.5.1.3. Transfert des techniques à d'autres laboratoires

Des réactifs pour le diagnostic des norovirus et des rotavirus sont désormais largement commercialisés. De ce fait, la demande de transfert de techniques se pose rarement. Pour répondre à la demande des laboratoires français, mais aussi étrangers ou d'Outre-Mer, nous fournissons nos procédures et nous assurons un soutien technique à distance. Néanmoins, la demande la plus fréquente des laboratoires français, comme étrangers, est **la fourniture de témoins positifs**. Nous disposons à cet effet d'un stock d'échantillons de selle dont le virus est parfaitement caractérisé.

Avec l'objectif de disposer d'un contrôle externe pour les tests immunochromatographiques, nous avons développé une collection d'antigènes synthétiques sous forme de particules virales de synthèse (VLP) dérivées principalement des norovirus humains dont nous possédons un large panel. Ces VLP correspondent entre autres aux principaux géotypes circulant en France, dont les derniers variants (voir ci-après).

2.5.2. Collection de souches, antigènes ou anticorps de référence

2.5.2.1. Description des collections

La collection des souches a commencé dès la création du CNR en 2002. Depuis 2007 nous y avons ajouté la production de pseudo-particules virales (VLP) et d'anticorps monoclonaux.

Collection de souches ou prélèvements

- **les principaux virus entériques cultivables servant de modèle pour leur étude in vitro** : rotavirus bovin (souche RF), simien (souche SA11), humain (souches Wa et DS-1) ; parechovirus type 1 et type 2 ; virus Aichi A et C ; astrovirus type 4 et type 8 ; ECBO ; Bactériophage MS2 ; norovirus MNV-1.
- **une importante collection de souches** parfaitement caractérisées : elle comprend la plupart des géotypes connus de **rotavirus, norovirus** (plus de 1000 souches de chaque) et la plus importante

collection de souches de **virus Aichi**. Nous fournissons plusieurs laboratoires en Europe et dans le monde – dont le CDC USA – en virus de référence. Elle comprend également plusieurs souches d'**astrovirus**, de **sapovirus** et d'**adénovirus** avec une diversité de sérotypes ou de génotypes.

- **une collection de virus isolés à partir de selles bovines** : **rotavirus** et **norovirus bovins** de différents génotypes particulièrement utiles pour prouver l'origine bovine de certains virus isolés chez l'homme par comparaisons génétique.

→ **Au total**, notre collection comprend la plupart des génotypes des virus responsables de diarrhées chez l'homme. Cette collection nous permet **l'évaluation des nouveaux réactifs et la fourniture de contrôles externes** aux laboratoires français souhaitant développer ces diagnostics. L'ensemble des caractéristiques de ces virus est inclus dans une banque de données européenne (séquences génomiques, localisation de l'épidémie, origine de la contamination).

Collection de gènes clonés et de pseudo particules virales (VLP)

- Les norovirus humains ne se multiplient pas sur cellules et ne peuvent donc être purifiés et concentrés. Pour les souches d'intérêt qui risqueraient de ne plus être disponibles après épuisement du prélèvement, nous avons développé **un programme de clonage de leur génome** afin de les conserver sous forme de plasmide.
- Pour disposer d'antigènes correspondant aux différents génotypes, nous avons entrepris un programme d'expression du gène codant la protéine de capsid afin de fabriquer des **pseudo-particules recombinantes de norovirus (VLP)**. Ce programme a été conçu en concertation avec d'autres équipes internationales (notamment le NIH) afin de potentialiser nos capacités de production, mais en gardant la pleine propriété de certains génotypes clés pour nos collaborations avec les industriels du domaine. Aujourd'hui, nous disposons de plus d'une vingtaine de VLP correspondant aux principaux norovirus humains :
- **VLP disponibles au laboratoire** :
 - **norovirus GI et GII** : **GI.1, GI.2, GI.3, GII.3, GII.4*, GII.6, GII.12 et GII.17****
 - **norovirus GIV.1 (Alphatron) et GIX (ex-GII.15)**
 - **sapovirus GI.2 et GII.1**
 - **bufavirus G1, G2, G3 ; tusavirus, cutavirus**
 - **rotavirus A (VP2+VP6)**
 - **VHE**

** pour le génotype GII.4, nous disposons des VLP correspondant aux variants : Bristol, US95/96, Hunter(2004), 2006a, 2006b, Osaka (2007), 2008, 2012 et 2016 (souches Dijon). ** pour le génotype GII.17, nous disposons des VLP correspondant à l'ancienne souche (Kawasaki323) avant 2015 et à la nouvelle souche épidémique après 2015 (Kawasaki308).*

Collection d'anticorps monoclonaux.

- **anticorps monoclonaux anti-rotavirus** : collection d'Ac dirigés contre les protéines VP6 et VP4. Ces anticorps monoclonaux sont utilisés dans certains réactifs commercialisés.
- **anticorps monoclonaux/polyclonaux anti-norovirus** : collection d'Ac obtenus à partir des VLP de norovirus GI et GII. Ces anticorps sont utilisés pour l'étude de l'évolutivité des souches GII.4. Ces anticorps sont utilisés dans certains réactifs commercialisés.

2.5.2.2. Conditions de stockage

Nos prélèvements sont répartis en aliquotes : cryotubes de 1,8ml. Ils sont « anonymisés » et identifiés par un numéro unique. Ils sont classés et répertoriés en fonction du ou des virus présents. Conservés à -40°C ou -80°C

Les plasmides de norovirus sont conservés à -20°C dans de l'eau pure Milli-Q (Millipore®). Les bactéries transformées correspondantes sont entreposées à -80°C.

Les baculovirus recombinants permettant la production de pseudo-particules sont tous répertoriés puis stockés à +4°C (usage à court et moyen terme) et à -80°C (stockage à long terme)

2.5.2.3. Conditions de mise à disposition des souches, VLP et anticorps

Nos prélèvements, souches caractérisées, VLP et anticorps sont disponibles gratuitement à tous les laboratoires publics qui en font la demande.

La mise à disposition de ces matériels biologiques viraux à des sociétés privées est possible dans le cadre d'un contrat entre ces sociétés et notre établissement.

2.5.3. Bases de données de séquences

Toutes les séquences d'intérêt sont partagées avec nos collègues des réseaux « Noronet » pour ce qui concerne les norovirus et « EuroRotaNet » pour les rotavirus. Nous avons mis en commun plusieurs centaines de séquences virales qui ont permis de suivre l'évolution de ces virus, notamment les norovirus et d'affiner leur classification.

3. ACTIVITÉS SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

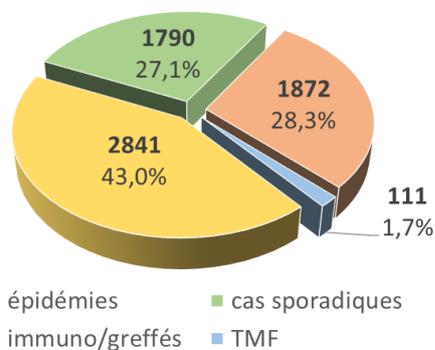
3.1. ACTIVITÉS D'EXPERTISE DU CNR ENTRE 2017 ET 2021

Éléments clefs de l'activité d'expertise du CNRvge entre 2017 et 2021 :

- délai moyen de rendu des premiers résultats de 2,6 jours
- expertises virologiques de 866 épidémies de cas groupés : 686 souches de norovirus dont 79,4% de GII (46,5% GII.4) avec 30,8% GII.4 SydneyP[16], 7,1% GII.2[P16] et 6,9% GII.17, et 20,6% de GI.
- investigations virologiques chez 1526 patients immunodéprimés : 23,9% de patients positifs et prépondérance des norovirus avec 243 souches (48,3%).
- expertises virologiques de 1790 cas sporadiques : 30,8% de patients positifs et prépondérance des norovirus (321 souches ; 91,6% de GII) et rotavirus (150 souches ; G9P[8] et G3P[8] majoritaires) .
- bilan virologique de 18 selles pour transplantation de microbiote fécal et 244 selles dans un cadre contractuel ou de partenariat.

Au total, **6614 échantillons de selles** ont été analysés par le CNR de 2017 à 2021 (Figure 2) se répartissant en :

- **2841 selles** provenant de 866 épidémies de cas groupées (**43,0%**)
- **1872 selles** provenant de 1526 patients immunodéprimés ou greffés (**28,3%**)
- **1790 selles** de cas sporadiques de diarrhées aiguës (**27,1%**)
- **111 selles** de dons TMF pour expertise (**1,7%**), auxquelles se rajoutent **283 échantillons de selles** provenant de notre activité de qualification de dons pour la recherche.



Bilans d'activité de 2017 à 2021

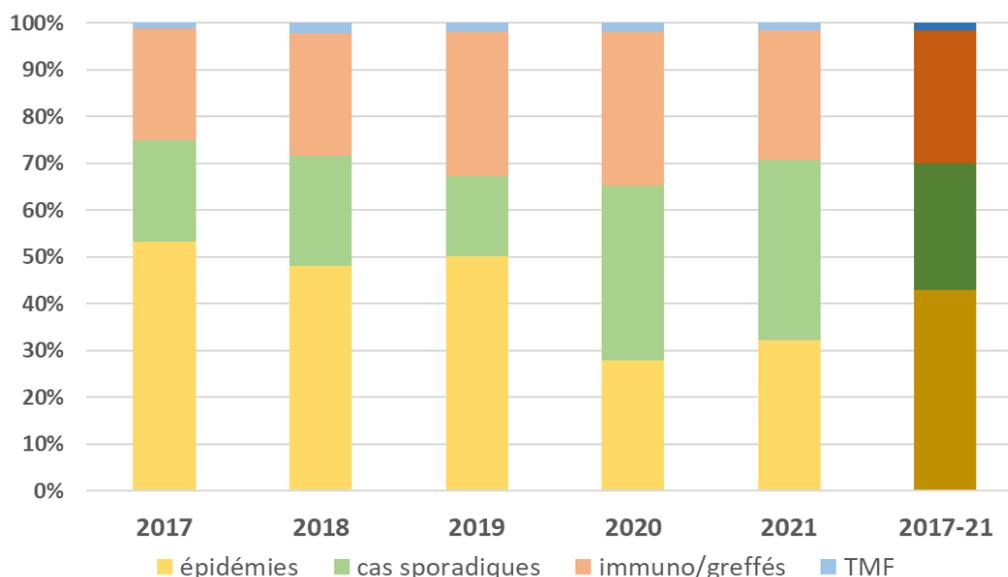


Figure 2 : Distributions annuelles et cumulée des 6614 échantillons expertisés entre 2017 et 2021.

3.1.1. Investigations virologiques des épidémies de cas groupés

3.1.1.1. Données épidémiologiques

Dans la quasi-totalité des épidémies, l'alerte a été effectuée directement ou indirectement via SPF, les CIRE ou les délégations territoriales des ARS concernées.

Les prélèvements ont été transmis par des laboratoires publics ou privés, ou directement par l'établissement concerné par l'épidémie. L'acheminement a été effectué par voie postale dans la plupart des cas ou, lorsque le nombre de prélèvements le justifiait, par un transporteur agréé (p. ex. la société TSE à Lyon).

Entre 2017 et 2021, nous avons expertisé **866 épidémies dont 671 étaient positives** pour au moins un virus entérique **soit 77,5%** (pour 90,0% d'entre elles, un norovirus était retrouvé seul ou associé à un autre virus) (**Tableau 2**). Si on analyse **les 195 épidémies « négatives » (27,6%)**, on constate que pour 72 (36,9%) et 43 (22,0%) d'entre elles nous n'avions qu'un ou deux prélèvements, respectivement (soit dans plus d'un cas sur deux). Or, l'observation des données montre qu'en disposant de **3 à 4 prélèvements par épidémie nous pouvions prouver l'étiologie d'une épidémie quand elle est virale (Tableau 3)**.

À noter qu'entre 2012 et 2021, Nous avons expertisé 2323 épidémies et détecté un virus pour 1886 d'entre elles soit 81,2%. Nous avons retrouvé un norovirus seul ou associé à d'autres virus pour 90,6% (1709) de ces épidémies positives.

Au total de 2017 à 2021, 2841 échantillons ont été analysés, soit une moyenne de 3,3 ±2,2 échantillons et une médiane de 3 échantillons par épidémie :

- **671 épidémies « positives » comprenant : 2021 prélèvements analysés**, soit une moyenne de 3,5 ±2,2 échantillons et une médiane de 3 échantillons analysés par épidémie, dont **1664 positifs**, soit une moyenne de 2,5 ±1,7 positifs et une médiane de 2 positifs par épidémie,
- **195 épidémies « négatives » comprenant 494 prélèvements analysés**, soit une moyenne de 2,5 ±1,7 échantillons et une médiane de 2 échantillons analysés / épidémie.
- **rapport (échantillons positifs / analysés) : 63,4%** des échantillons analysés contenaient au moins 1 virus, et 82,3% des échantillons issus des épidémies « positives » contenaient au moins 1 virus.

Tableau 1 : Tableau annuel comparatif des prélèvements analysés entre 2017 et 2021

épidémies		infections	virus								étiologie inconnue	
			NoV	SaV	RVA	AdV	AstV	AiV	EV	autres		
Mandat 2017-2022	2017	237	mono : 173 mixtes : 6	155 6	3 3	12 3	2 0	1 1	0 0	0 0	- -	55 (23,2%)
	2018	184	mono : 135 mixtes : 10	119 8	8 7	7 3	1 2	0 2	0 2	0 0	- -	39 (21,2%)
	2019	214	mono : 157 mixtes : 13	144 13	2 8	6 2	4 2	1 0	0 2	0 5	- -	44 (20,6%)
	2020	112	mono : 74 mixtes : 8	70 7	0 3	3 1	0 3	0 0	0 0	1 3	- -	30 (26,8%)
	2021	119	mono : 81 mixtes : 11	72 10	0 4	3 2	3 6	2 0	0 0	0 0	1* 2*	27 (22,7%)
	bilan	866	mono : 623 mixtes : 48	560 44	13 25	31 11	10 13	4 3	0 4	1 8	1 2	195 (27,6%)

NoV : norovirus; SaV : sapovirus; RVA : rotavirus; AdV : adénovirus; AstV : astrovirus; AiV : virus Aichi; EV : entérovirus;
*SARSCoV2

Tableau 3 : Distribution des épidémies selon le nombre de prélèvements analysés et le nombre de prélèvements positifs. Pour 355 (52,9%) des 671 épidémies positives entre 2017 et 2021, le nombre de prélèvements positifs correspondait exactement au nombre de prélèvements reçus au laboratoire du CNR. Cette proportion reste plutôt stable d'une année à l'autre : 53,3% en 2021, 52,4% en 2020, 60,0% en 2019, 49,0% en 2018 et 50,2% en 2017.

2017-21		Nombre de prélèvements analysés															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Total
Nombre de prélèvements positifs	0	72	43	37	16	12	8	4	2	1							195
	1	117	43	40	18	8	1	3	1	1	1	2	1	1			237
	2		80	51	18	12	4	1									166
	3			86	26	7	11	3		1							134
	4				38	18	5	1									62
	5					11	5	5									21
	6						16	3	4	2							25
	7							5	6	1	2				2		16
	8								1	1	1	2					5
	9									1	1		1			2	5
Total	189	166	214	116	68	50	25	14	8	5	4	2	1	2	2	866	

3.1.1.2. Principales souches virales caractérisées entre 2017 et 2021

Les norovirus (Tableau 4) :

- **686 souches de norovirus ont été caractérisées entre 2017 et 2021 dans 604 épidémies dont :**
 - 141 souches de NoV-GI, soit 20,6%
 - **545 souches de NoV-GII, soit 79,4%**
 - pour comparaison, nous avons caractérisé 1755 souches dans 1591 épidémies dont 16,6% de NoV GI et 84,4% de NoV GII sur la période 2012-2021. Cette différence pourrait s'expliquer par le mode de transmission (hydrique, alimentaire ou de personne-à-personne).
- **le génotype GII.4 représentait 46,5% des NoV avec 319 souches dont :**
 - **211 souches GII.4 Sydney[P16]**, NoV recombinant prédominant apparu en 2016,
 - **34 souches GII.4 Sydney[P4 NewOrleans]**, NoV recombinant,
 - **29 souches GII.4 Sydney[P31]**, NoV recombinant apparu au début des années 2010,
 - **29 souches GII.4 Sydney 2012**, NoV apparu en 2012.
- **le génotype GII.4[P16] était la souche qui a le plus circulée au cours de la période avec 30,8% des NoV détectés soit 211 souches** et une fréquence moyenne annuelle de 21,7%.
- **le génotype GII.2[P16] était une des souches non GII.4 ayant le plus circulée sur la période avec 7,1% des souches de norovirus, soit 49 souches.**
- **le génotype GII.17[P17] a marqué un pas dans sa circulation avec 6,9% des NoV détectés soit 63 souches sur la période avec une fréquence moyenne annuelle de 10,2%.** Il s'agit du variant GII.17 Kawasaki-308 qui avait émergé en Europe en 2016 et était devenu temporairement le génotype principal de norovirus en France.
- **les autres génotypes (25 souches) dont quelques recombinants (10 souches) associés aux génotypes GII.3, GII.4 et GII.6 ont circulé sur la période avec des fréquences similaires.**
- **les NoV GI ont été impliqués dans les épidémies avec une fréquence de 20,6% soit 141 souches** représentant 8 génotypes différents de GI.1, GI.2, GI.3, GI.4, GI.5, GI.6, GI.7 et GI.9 (sur les 9 appartenant au génogroupe I) et 3 variants recombinants. **Le virus de Norwalk (GI.1) représentait 31,2% de l'ensemble des souches GI détectées** suivi du génotype GI.3 avec 13,5% des souches GI.

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des souches de norovirus caractérisées de 2017 à 2021

		2017			2018			2019			2020			2021			2017-21		
Norovirus		GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%
Génogroupe I (GI)	GI non typable	5		2,9%	4		2,5%	4		2,2%	1		1,1%	1		1,1%	15		2,2%
	GI.1	1		0,6%	12		7,5%	22		12,2%	7		7,8%	2		2,3%	44		6,4%
	GI.2	3		1,8%	5		3,1%	3		1,7%	6		6,7%				17		2,5%
	GI.3	5		2,9%	1		0,6%	10		5,5%	2		2,2%	1		1,1%	19		2,8%
	GI.3P[13]							2		1,1%							2		0,3%
	GI.4	2		1,2%	8		5,0%	2		1,1%	1		1,1%				13		1,9%
	GI.5				4		2,5%	2		1,1%							6		0,9%
	GI.5[P4]				1		0,6%										1		0,1%
	GI.6	1		0,6%	4		2,5%	2		1,1%	2		2,2%	2		2,3%	11		1,6%
	GI.6P[11]	1		0,6%	2		1,3%				1		1,1%				4		0,6%
GI.7	1		0,6%	6		3,8%	1		0,6%							8		1,2%	
GI.9													1		1,1%	1		0,1%	
Génogroupe II (GII)	GII non typable		13	7,6%	4	2,5%		6	3,3%		6	6,7%		6	6,9%		35	5,1%	
	GII.2		6	3,5%	3	1,9%		2	1,1%					1	1,1%		12	1,7%	
	GII.2[P16]		12	7,1%	16	10,0%		1	0,6%		1	1,1%		19	21,8%		49	7,1%	
	GII.3							2	1,1%					2	2,3%		4	0,6%	
	GII.3[P12]				1	0,6%								2	2,3%		3	0,4%	
	GII.3[P16]				1	0,6%		2	1,1%								3	0,4%	
	GII.3[P30]				2	1,3%		5	2,8%					1	1,1%		8	1,2%	
	GII.4 Bristol		1	0,6%													1	0,1%	
	GII.4 Yerseke		1	0,6%													1	0,1%	
	GII.4 Den Haag							1	0,6%								1	0,1%	
	GII.4 New Orleans				1	0,6%		1	0,6%								2	0,3%	
	GII.4 Sydney [P4 Hunter]				3	1,9%					3	3,3%					6	0,9%	
	GII.4 Sydney [P4 New Orleans]		24	14,1%	1	0,6%		2	1,1%		7	7,8%					34	5,0%	
	GII.4 Sydney		13	7,6%	1	0,6%		5	2,8%		3	3,3%		7	8,0%		29	4,2%	
	GII.4 Bristol[P16]				1	0,6%											1	0,1%	
	GII.4 Sydney[P16]		52	20,6%	51	31,9%		67	37,0%		16	17,8%		25	28,7%		211	30,8%	
	GII.4 Sydney[P21]				4	2,5%											4	0,6%	
	GII.4 Sydney[P31]		3	1,8%	10	6,3%		6	3,3%		2	2,2%		8	9,2%		29	4,2%	
	GII.5[P22]							1	0,6%								1	0,1%	
	GII.6		2	1,2%	1	0,6%		4	2,2%		2	2,2%					9	1,3%	
	GII.6[P7]				1	0,6%		11	6,1%		2	2,2%		1	1,1%		15	2,2%	
	GII.7		2	1,2%				2	1,1%					1	1,1%		5	0,7%	
	GII.7[P6]										2	2,2%					2	0,3%	
GII.8							4	2,2%		2	2,2%		1	1,1%		7	1,0%		
GII.10							1	0,6%		1	1,1%					2	0,3%		
GII.13				2	1,3%											2	0,3%		
GII.13[P16]							1	0,6%		1	1,1%					2	0,3%		
GII.15				2	1,3%											2	0,3%		
GII.16				1	0,6%											1	0,1%		
GII.17		22	12,9%	7	4,4%		8	4,4%		20	22,2%		6	6,9%		63	9,2%		
GII.20							1	0,6%								1	0,1%		
total	19	151	151	47	113	160	48	133	181	20	68	88	7	80	87	141	545	686	
%	11,2	88,8	88,8	29,4	70,6	160	26,5	73,5	181	22,7	77,3	88	8,0	92,0	87	20,6	79,4	686	

Autres virus détectés (123) :

- **rotavirus** : **43 souches** retrouvées dans 32 épidémies. Les principaux génotypes ont été retrouvés avec une majorité de **G9P8**] suivi par **G2P[4]**, G3P[8], G1P[8] et plus rarement G4P[8], ce qui est un reflet de l'épidémiologie des rotavirus en France sur cette période.
- **sapovirus** : **38 souches** retrouvées dans 38 épidémies, principalement de **génogroupe GI.2**.
- **adénovirus** : **23 souches** dans 23 épidémies, mais seulement deux souches de type F41, les souches étant essentiellement de types C et D.

- **astrovirus** : **6 souches** retrouvées dans 6 épidémies principalement de type 1.
- **virus Aichi** : **4 souches** retrouvées dans 4 épidémies principalement de type B.
- **bocavirus** : **1 souches** retrouvées dans 1 épidémie.
- **entérovirus** : **5 souches** transmises au CNR des entérovirus.
- **coronavirus** : **3 souches** retrouvées dans 3 épidémie, toutes SARS-CoV-2.

3.1.1.3. Conclusions sur les virus entériques caractérisés dans les épidémies

Comme à chaque saison, les norovirus sont présents dans la majorité (90,0%) des épidémies de cas groupés de gastro-entérites avec des variations annuelles [82,9-93,9%], et représentent la majorité (82,7%) des virus isolés des selles analysées. Il s'agit essentiellement de norovirus du génogroupe II (79,4% des norovirus détectés et 74,7% des virus détectés).

Jusqu'à 2016, les variants du génotype GII.4 étaient prédominants et se succédaient selon un cycle de 2 à 3 années. Depuis 2017, les variants recombinants prédominent, en particulier le **GII.4 SydneyP[16]** qui a émergé en 2016 en France et qui représente 30,8% des souches de norovirus caractérisées entre 2017 et 2021, soit 211 souches.

À noter, le génotype **GII.2[P16]** qui a émergé en 2016 et est en 2021 le deuxième génotype responsable d'épidémies de cas groupés avec 21,8% des cas. Ce génotype est détecté de manière intermittente.

Le génotype **GII.17 Kawasaki-308** qui avait émergé au cours de l'hiver 2015-2016 avec presque 45% des souches de norovirus caractérisées reste un des génotypes majeurs de norovirus responsable d'épidémies bien qu'il ait été moins fréquemment responsable de cas groupés entre 2017 et 2021 avec 9,2% soit 63 souches.

Au cours de de la période 2017-21, les **norovirus GI** ont été détectés avec une fréquence de 20,6% mais avec de forte variation au cours du temps, oscillant entre 8,0% (2021) et 29,4% (2018). Leur implication dans les épidémies de cas groupés reste assez inconstante entre 7 et 48 épidémies selon les années.

Il reste nécessaire de garder à l'esprit que le nombre d'épidémies a été réduit en 2020 et 2021 compte-tenu du contexte sanitaire, de l'utilisation des masques et de gel hydroalcoolique systématique. On observe néanmoins un regain de circulation des virus des gastro-entérites sur l'année 2022 avec déjà 44 épidémies de cas groupés sur le premier trimestre.

3.1.2. Investigations virologiques de cas sporadiques

Au cours de la période 2017-2021, le CNR a procédé à l'analyse de **3662 prélèvements** de selles issus de 1526 sujets immunodéprimés (1872 selles) et de 1790 cas de diarrhées aiguës sporadiques.

3.1.2.1. Surveillance de patients immunodéprimés (Figure 3)

Nous avons reçu **1872 selles représentant le suivi de 1526 patients**. Nous n'avons reçu un seul prélèvement pour 1292 patients et 2 à 6 prélèvements pour 236 patients. Au total, **448 (23,9%) selles** chez 364 (23,9%) patients **étaient positives** pour 1 virus (319 patients [87,6%]), 2 virus (45 patients [12,4%]), 3 ou 4 virus (2 patients).

En tout, **503 virus** ont été caractérisés avec par ordre de fréquence :

- **243 norovirus (195 patients ; 53,6%)** :
 - 22 (9,1%) souches de NoV-GI non typables
 - **221 (90,9%) souches de NoV-GII dont 73 variants GII.4 (33,0%)**.
- **76 adénovirus** (74 patients ; 20,3%) dont essentiellement du groupe C et seulement 5 souches entériques (3 AdV-F40 et 2 AdV-F41).
- **47 entérovirus** (42 patients ; 12,9%) transmis au CNR entérovirus (si Cq<37).
- **46 sapovirus** (43 patients ; 11,8%) dont majoritairement des GI.2 et GII.3.
- **38 rotavirus** (26 patients ; 7,1%) dont majoritairement du G9P[8], souche la plus fréquente chez l'enfant au cours de la période 2017-21 en France.
- **16 astrovirus** (15 patients ; 4,1%) dont essentiellement des AstV-1.
- **9 bocavirus** (9 patients ; 2,5%).
- **7 virus Aichi** (5 patients ; 1,4%) dont 6 génotype B et 1 génotype A.
- **7 astrovirus MLB/VA** (7 patients ; 1,9%), tous MLB-1.

- **2 paréchovirus** (2 patients ; 0,5%) transmis au CNR entérovirus (si Cq<37).
- à noter **12 SARS-CoV-2** (11 patients ; 3,0%).

Tableau 5. Détail des typages de norovirus détectés chez des immunodéprimés entre 2017 et 2021

	Souches de norovirus	nombre	Souches de norovirus	nombre
GI	<i>GI non typables*</i>	9		
	GI.1	4	GI.5[P4]	1
	GI.2	3	GI.6[PNA1]	1
	GI.3	2	GI.7	2
GII	<i>GII non typables*</i>	56	GII.4 Sydney[P4 Hunter]	6
			GII.4 Sydney[P4 New Orleans]	6
	GII.1[P33]	4	GII.4 Sydney[P16]	18
	GII.2	5	GII.4 Sydney[P21]	1
	GII.2[P16]	26	GII.4 Sydney[P31]	23
	GII.3	7	GII.6	12
	GII.3[P16]	3	GII.6[P7]	9
	GII.3[P21]	6	GII.7	5
	GII.3[P30]	1	GII.10	1
	GII.4 Yerseke	1	GII.13[P16]	1
	GII.4 Den Haag	4	GII.14	2
	GII.4 New Orleans	3	GII.17	9
	GII.4 Sydney	11	GII.17[P31]	1

* charge virale trop faible

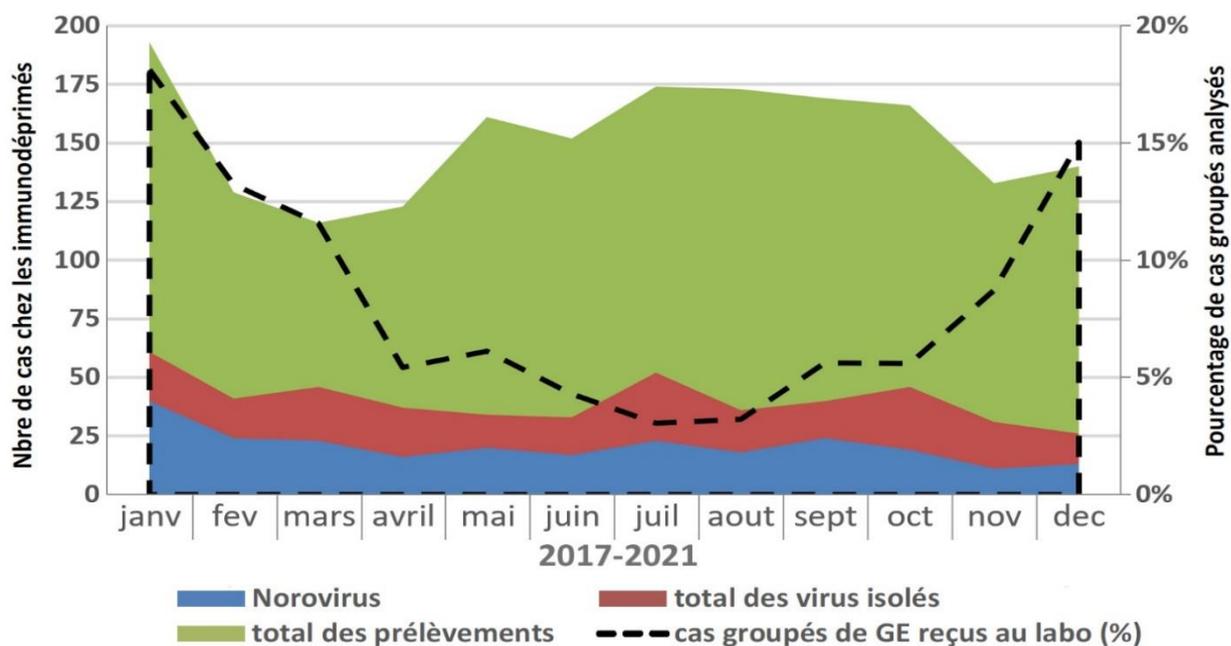


Figure 3 : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des patients immunodéprimés (1 prélèvement/patient) : 1872 demandes entre janvier 2007 et décembre 2021.

3.1.2.2. Diagnostic de cas sporadiques de diarrhées aiguës (Figure 4)

Entre 2017 et 2021, nous avons analysés les selles de **1790 patients** souffrant de diarrhée aiguë et provenant de CHR, CHU ou LABM de toute la France.

La moyenne d'âge était à 25,7 ans et la médiane à 7,0 ans [1 jours ; 100 ans]. En tout 552 (30,8% [16,1%-50,4%]) patients étaient positifs pour au moins 1 virus entérique dont 37 patients qui présentaient 2 à 4 virus dans les selles.

En tout, **657 virus** ont été détectés dont :

- **norovirus : 321 souches** (Tableau 6) :
 - 26 souches de NoV-GI,
 - **294 souches de NoV-GII**, soit 91,6% des norovirus détectés **dont 103 variants GII.4 (35,0%),**
 - **1 souche de GIV.1.**
- **rotavirus : 150 souches** dont 49 G9P[8], 41 G3P[8], 17 G1P[8], 8 G2P[4], 2 G12P[8], 1 G9P[4] et 1 souche bovine G8P[14].
- **adénovirus : 83 souches** dont 21 souches entériques (groupe F ; AdV-40 et 41) et des souches non entériques des groupes C essentiellement.
- **sapovirus : 28 souches** dont 9 GI.1, 3 GI.2, 5 GII.3 et 1 GII.6.
- **entérovirus : 33 souches** dont 1 EV-D68 (B3), 1 EV-71 (C1), 8 rhinovirus (A12, A24, B27, B92, C17, C19, C24, C40), 4 coxsackie (A4, A16 et B3) et 1 échovirus 25.
- **paréchévirus : 20 souches** dont PeV-1, PeV-4, PeV-5.
- **astrovirus : 12 souches.**
- **virus Aichi : 2 souches** (B).
- **bocavirus : 8 souches.**

Tableau 6. Détail des typages des norovirus détectés dans les cas sporadiques entre 2017 et 2021

	Souches de norovirus	nombre	Souches de norovirus	nombre
GI	<i>GI non typables*</i>	11	GI.3[P13]	2
	GI.1	4	GI.6	1
	GI.2	3	GI.6[P11]	2
	GI.3	2	GI.U (Saitama KU19a)	1
GII	<i>GII non typables*</i>	62	GII.4 Sydney[P4 New Orleans]	14
	GII.2	7	GII.4 Sydney[P16]	36
	GII.2[P16]	14	GII.4 Sydney[P31]	33
	GII.2[P21]	1	GII.6	10
	GII.3	28	GII.6[P7]	7
	GII.3[P12]	16	GII.7	6
	GII.3[P21]	5	GII.8	4
	GII.3[P30]	7	GII.12[P16]	3
	GII.4 New Orleans	1	GII.13	2
	GII.4 Sydney	18	GII.13[P16]	1
GII.4 Sydney[P4 Hunter]	1	GII.17	18	
GIV	GIV.1	1		

* charge virale trop faible

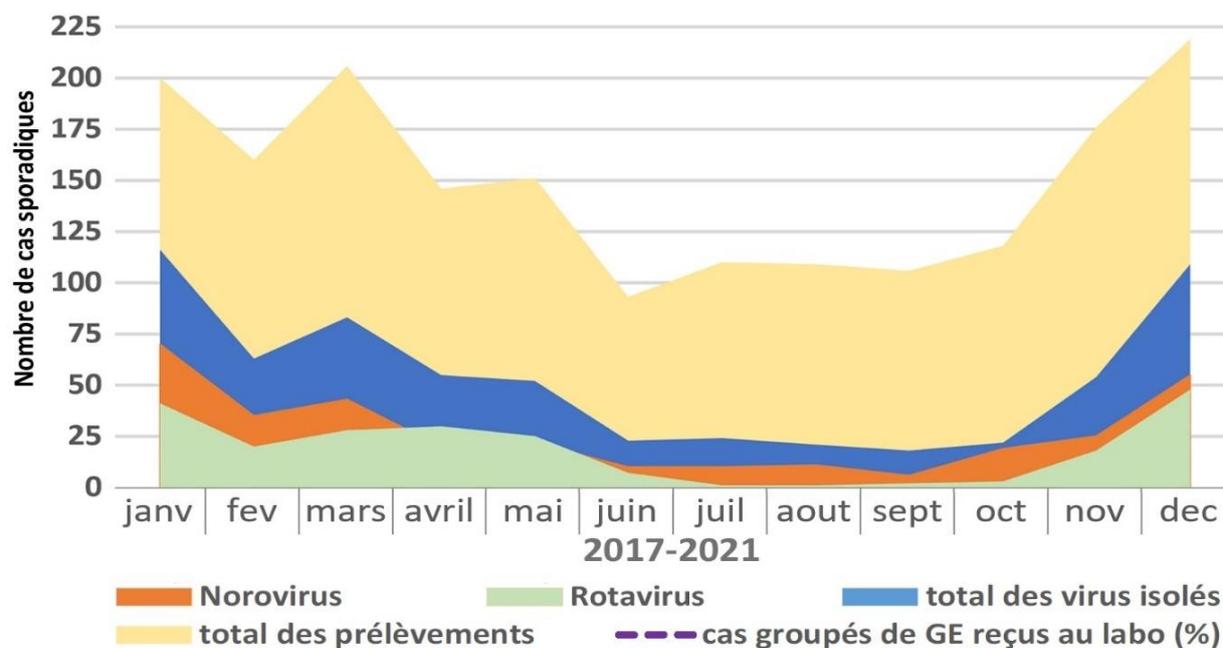


Figure 4 : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des 1790 cas isolés analysés entre janvier 2017 et décembre 2021 (1 prélèvement/patient).

3.1.3. Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal

Entre 2017 et 2021, nous avons analysés **111 selles pour qualification de don de TMF** avec une médiane de 22 selles par an. Ces échantillons provenaient de divers CHU : Amiens, Brest, Clermont-Ferrand, Lyon, Nantes, Paris (Cochin, Henri-Mondor et La Pitié-Salpêtrière), Rouen et Saint-Etienne. Au total, **17 (15,3%) dons ont été disqualifiés** suite à la détection de norovirus (9), adénovirus (2), sapovirus (1), virus Aichi (1), paréchovirus (1), entérovirus (1) ou SARS-CoV-2 (2).

Nous participons depuis 2014 à divers programmes de recherche sur les traitements à l'aide de la TMF, notamment avec l'équipe du Pr. Harry SOKOL de l'APHP (études REBALANCE/MIRACLE sur les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)) et de BIOFORTIS (MérieuxNutriSciences) via des accords-cadres. Dans ce contexte, **283 prélèvements de selles ont été analysés en 2020 pour qualification du don**, dont seuls **2 échantillons ont été disqualifiés** après détection de SARS-CoV-2. À noter que début 2020, l'ANSM a restreint le recours à la transplantation de microbiote fécal (TMF) dans le contexte sanitaire COVID mais cela a surtout impacté les études en cours. **Notre expérience est mise à disposition des autres laboratoires afin de favoriser l'accès à cette nouvelle thérapeutique.**

3.1.4. Délai de restitution des résultats (Figure 5)

Afin de répondre au mieux au besoin d'un résultat diagnostique rapide pour le traitement des épidémies groupés et des cas sporadiques, le CNR s'est organisé afin de réduire au maximum les délais de restitution des résultats d'analyse. La recherche des norovirus GI et GII dans les selles, analyse accréditée COFRAC, est l'analyse principale qui sert de baromètre pour l'évaluation des délais de restitution.

L'analyse « norovirus GI/GII » est majoritairement réalisée dans un délai inférieur à 7 jours avec un pic à 1 et 2 jours, et une moyenne de 2,6 jours (2,3, 2,5, 2,6, 2,8 et 2,8 jours en 2017, 2018, 2019, 2020 et 2021, respectivement), avec des médianes de 2 jours.

Il est important de noter que les augmentations d'activité n'impactent que peu le délai de rendu des résultats pour la recherche de norovirus. Enfin, le délai de rendu d'un dossier complet (panel d'analyses allant jusqu'à 10 virus) au cours de l'année 2021 est de 4,1 jours avec une médiane à 4 jours la recherche systématique de SARS-CoV-2 dans toutes les selles reçues.

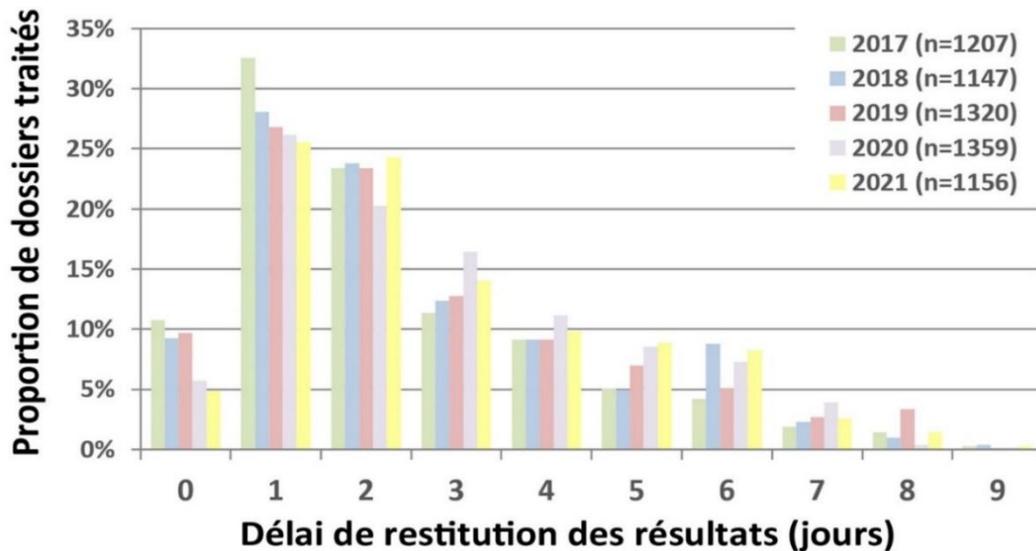


Figure 5 : Délai de restitution des résultats d'analyse de norovirus dans les selles de 2017 à 2021

Un allongement du délai de restitution peut être dû à : un rajout de l'analyse en seconde intention, un traitement en deux temps, une inhibition sur une autre analyse qui nécessite de répéter l'analyse, un jour férié qui décale la mise en œuvre des autres analyses ou à une analyse d'un autre virus fait tardivement.

3.1.5. Activité de séquençage au débit

Le CNRVge a accès à une plate-forme de séquençage haut-débit comportant actuellement deux séquenceurs Illumina® (MySeq® et NextSeq® 550) hébergés sur la Plate-forme de Biologie Hospitalo-Universitaire (PBHU) du CHU de Dijon. Le CNR est en cours d'acquisition, avec la Fédération de Microbiologie et l'aide de la Direction du CHU de Dijon, d'un séquenceur Illumina® NextSeq® 1000.

L'assistant ingénieur du CNRVge a été formé à la bio-informatique pour le traitement des données et bénéficie du support d'un ingénieur bio-informaticien de la plate-forme de génétique du CHU Dijon Bourgogne. Les données sont traitées via le logiciel Galaxy puis à l'aide du logiciel de métagénomique BioNumerics que nous alimentons en continu depuis plusieurs années au sein du CNR.

La mise en place des activités de séquençage NGS sur prélèvements de selles est un processus qui permettra à terme au CNR de répondre à la demande de détection du « virome intestinal » humain. Cette détection sera volontairement limitée à la détection des virus ARN majoritairement responsables des gastro-entérites chez l'homme. De nombreuses interférences existent avec notamment les ARN génomiques de l'hôte mais surtout les ARN ribosomaux des microbiote et mycobiote intestinaux. Le CNR est actuellement en capacité d'effectuer des analyses de type NGS pour les norovirus et les rotavirus dans les selles mais elles seront prochainement disponibles pour les analyses pan-virales dans les selles.

3.1.6. Évaluation des trousse de diagnostic des virus des gastro-entérites

3.1.6.1. Tests de diagnostic immunochromatographique triplex noro/rota/adeno

Nous avons publié en 2020 dans *Journal of Clinical Microbiology* l'évaluation des trousse de diagnostic par immunochromatographie dite « triplex » détectant les norovirus, les rotavirus et les adénovirus disponibles en France.

L'objectif de cette évaluation était de déterminer les performances diagnostiques des quatre tests immunochromatographiques (ICG) « triplex » commercialisés en France permettant la détection rapide et simultanée des principaux virus responsables des gastro-entérites aiguës (GEA) chez l'Homme (norovirus (NoV), rotavirus (RVA) et adénovirus (AdV)) à l'aide des collections de selles du CNR virus des gastro-entérites (Dijon, France).

L'évaluation a porté sur les trousse bioMérieux bioNexia® Noro/Rota-Adeno (réf. 415089), Biosynex IMMUNOQUICK® NoRotAdeno (réf. 1150013), CerTest Biotec ROTA+ADENO+NORO Combo Card (réf. RA872001V) et R-Biopharm RIDA®QUICK Rota/Adeno/Noro Combi (réf. N1903).

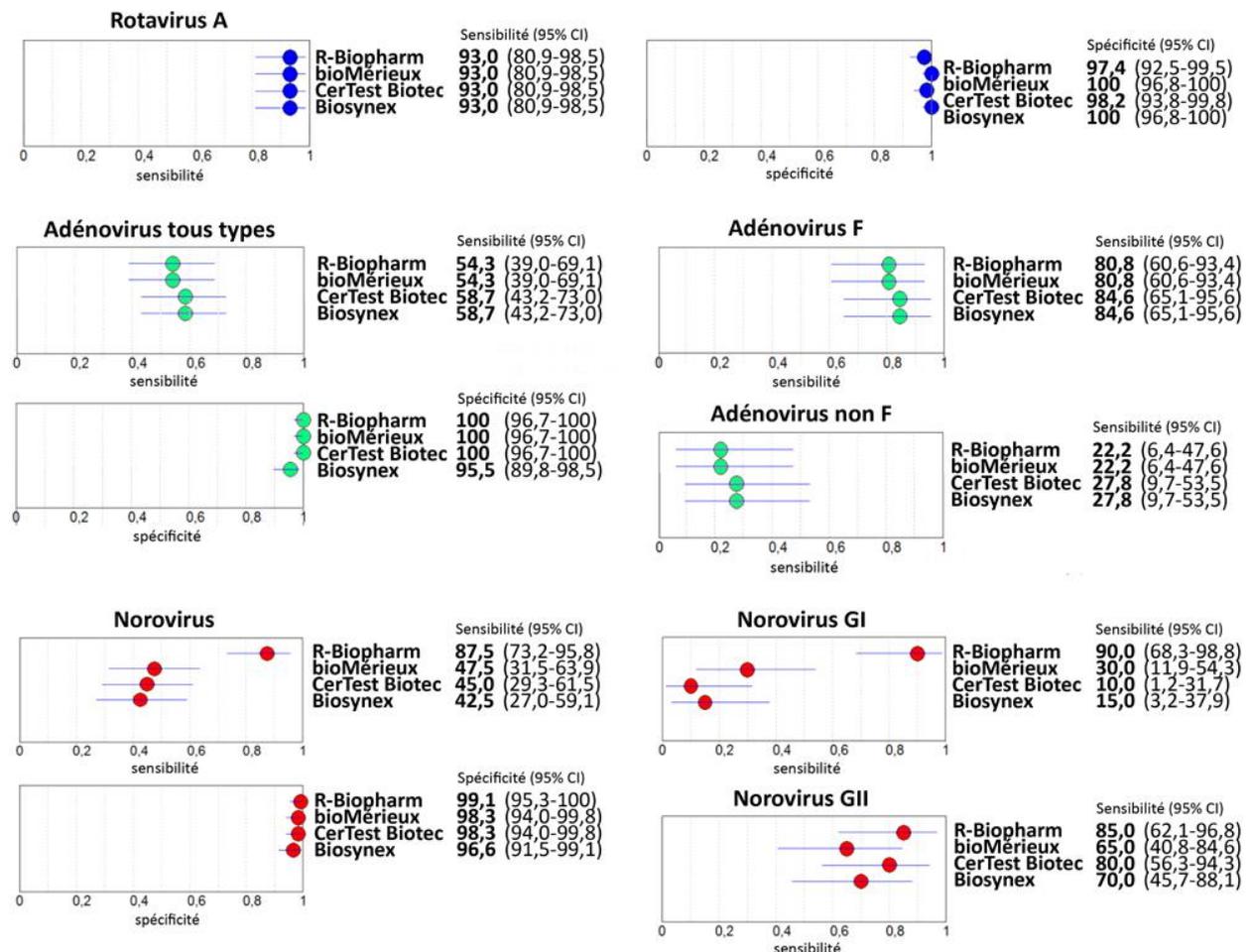
Les indicateurs de performance diagnostique ont été déterminés avec leurs intervalles de confiance à 95% pour chaque ICG à l'aide de 160 échantillons de selles caractérisées (21 NoV génogroupe I, 21 NoV génogroupe II, 43 RVA et 47 AdV dont 26 AdV-40/-41) et 39 échantillons négatifs provenant de patients souffrant de GEA en utilisant des techniques de biologie moléculaire comme tests de référence.

Pour la détection des RVA, les quatre ICG présentaient des performances similaires avec une sensibilité élevée (93%) et une excellente spécificité (97,4-100%) (**Figure 6**).

Pour la détection des AdV, les quatre ICG présentaient des performances similaires avec une sensibilité médiocre (54,3-58,7%) mais une excellente spécificité (95,5-100%). Leurs performances étaient meilleures sur les AdV-40/-41 « entériques » (sensibilité : 80,8-84,6% ; espèce F) que sur les AdV « non entériques » (sensibilité : 22,2-27,8% ; espèces B, C et D) (**Figure 6**).

Concernant la détection des NoV, le test ICG RIDA®QUICK Rota/Adeno/Noro Combi présentait une sensibilité élevée (87,5%) tandis que les trois autres tests ICG avaient une sensibilité médiocre (42,5-47,5%). Les quatre ICG présentaient une spécificité élevée (96,6-99,1%). Les performances diagnostiques étaient génogroupe-dépendantes : pour le génogroupe I, le test ICG RIDA®QUICK Rota/Adeno/Noro Combi présentait une très bonne sensibilité (90%) alors que la sensibilité des trois autres ICG était médiocre (10-30%) ; pour le génogroupe II, les quatre ICG avaient une sensibilité similaire (65-85%) (**Figure 6**).

Figure 6. Performances diagnostiques pour la détection des norovirus GI et GII, rotavirus du groupe A et des adénovirus



En conclusion, les quatre ICG sont adaptés au diagnostic rapide des infections à RVA. Les quatre ICG ne sont pas adaptés au diagnostic de routine des infections à AdV mais peuvent fournir une réponse rapide en cas de résultat positif, notamment dans un contexte de GEA. Seul le test ICG RIDA®QUICK Rota/Adeno/Noro Combi est adapté à la détection rapide des norovirus, tandis que la sensibilité pour la détection des norovirus génogroupe I doit être améliorée pour les 3 autres ICG avant de pouvoir être utilisés pour le diagnostic routinier des infections à norovirus.

3.1.6.2. Trousses de diagnostic de biologie moléculaire rotavirus/norovirus

Nous avons testé en 2019/2020 treize kits de RT-qPCR pour le diagnostic des norovirus et/ou des rotavirus dans les selles disponibles en France (Tableau 7).

L'objectif de cette évaluation était de déterminer et comparer dans deux études parallèles les performances diagnostiques de :

- 9 trousses commerciales de détection des norovirus (NoV) dans les selles.
- 8 trousses commerciales de détection des rotavirus du groupe A (RVA) dans les selles.

Remarque : quatre trousses étaient des trousses multiplexes, donc communes aux deux évaluations.

TROUSSES DE DÉTECTION NOROVIRUS	TROUSSES DE DÉTECTION ROTAVIRUS
Diagenode	
G-DiaNota™ Norovirus I/II Rotavirus (ref. DDGG10-L100)	
Fast-track	
Diagnostics FTlyo Viral Gastroenteritis (ref. FTlyo-3s-64-L)	
Immundiagnostik	
RT-PCR MutaPLEX® GastroSys 1 (ref. KG198696/KG198632)	
Seegene	
Allplex™ GI-Virus (ref. GI9701X)	
Altona RealStar® Norovirus RT-PCR Kit 2.0 (ref. 052013)	Altona RealStar® Rotavirus RT-PCR Kit 1.0 (ref. 561013)
CerTest Biotec Viasure Norovirus GI + GII Real time PCR detection kit (ref. VS-NOR112L)	CerTest Biotec Viasure Rotavirus Real time PCR detection kit (ref. VS-RTV112L)
Primerdesign Genesig® Advanced Kit Norovirus Genogroups 1 and 2 (ref. SB-NOROVIR)	Primerdesign Genesig® Advanced Kit Human Rotavirus A (ref. SB-ROTAVIRU)
R-Biopharm RIDA® GENE Norovirus I & II (ref. PG1415)	R-Biopharm RIDA® GENE Viral Stool Panel II (ref. PG1325)
Eurobio Ingen EurobioPlex Norovirus (ref. EBX-025)	

Tableau 7. Détail des trousses commerciales évaluées pour la détection des norovirus et des rotavirus.

NB : Les trousses évaluées ont été sélectionnées parmi celles disponibles sur le marché français. Seuls les fabricants ou distributeurs de trousses qui acceptaient de participer à cette étude de façon volontaire, de fournir gracieusement au CNR virus des gastro-entérites les trousses de détection nécessaires à cette évaluation et qui acceptaient que le CNR virus des gastro-entérites puissent communiquer librement les résultats de cette évaluation, ont été retenus.

Les essais ont été réalisés sur des échantillons de selles humaines issus de la collection du CNR virus des gastro-entérites (conservées à -40°C), sélectionnés afin de représenter les souches virales les plus importantes sur le plan épidémiologique et répartis comme suit :

- 50 selles positives en NoV (dont 3 co-infections avec du RVA et 1 co-infection NoV GI, NoV GII et RVA) incluses dans l'évaluation des trousses de détection des NoV : 25 souches de génogroupe I (5 GI.1, 5

GI.2, 5 GI.4, 1 GI.6, 4 GI.6[P11] et 5 GI.7) et 26 souches de génogroupe II (1 GII.3, 5 GII.4, 5 GII.6[P7], 4 GII.2[P16], 5 GII.4[P16], 5 GII.17 et 1 non typable).

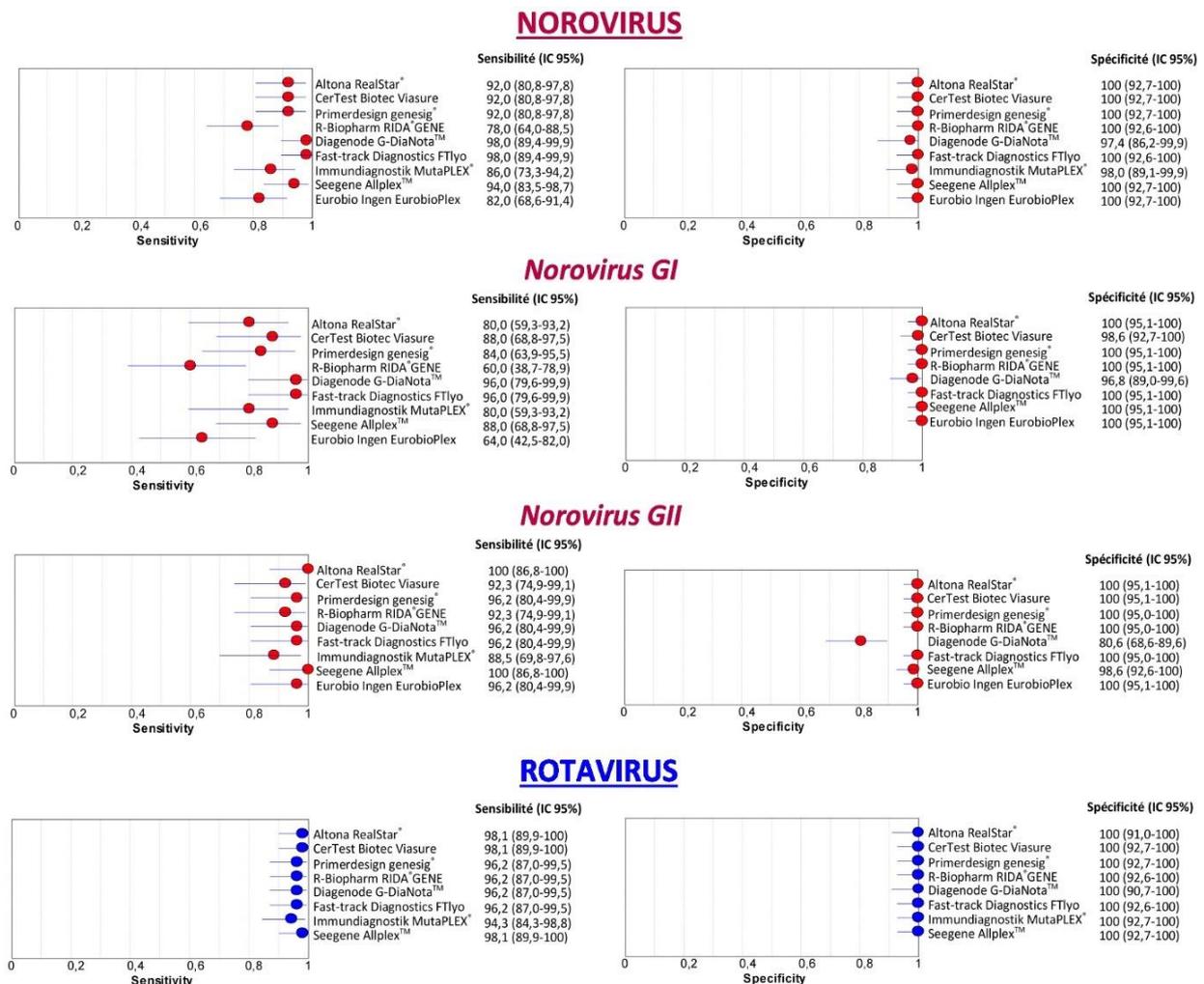
- 53 selles positives en RVA (dont 4 échantillons co-infectés avec du NoV) incluses dans l'évaluation des trousse de détection des RVA : 15 souches G1P[8], 10 G2P[4], 5 G3P[8], 5 G4P[8], 11 G9P[8], 5 G12P[8] et 2 souches non typables (G-UDP-UD).
- 49 selles négatives en NoV et RVA, incluses en parallèle dans les deux évaluations.

Au cours de l'évaluation, la présence ou l'absence d'ARN de norovirus et de rotavirus du groupe A a été vérifiée par les méthodes de référence utilisées en routine au CNR (RT-PCR en temps réel adaptées de la littérature par le CNR) :

- pour tous les échantillons positifs (norovirus et /ou rotavirus) de la collection du CNR,
- pour tout échantillon négatif de la collection du CNR, lorsque au moins l'un des tests de RT-PCR évalué donnait un résultat positif.

La sensibilité, la spécificité, les rapports de vraisemblance positif et négatif (LR+ et LR-) ainsi que le diagnostic odds ratio (DOR) ont été calculés avec leurs intervalles de confiance à 95% (IC 95%) en utilisant le logiciel Meta-DiSc (**Figure 7**).

Figure 7. Sensibilités et spécificités obtenues pour les tests RT-qPCR norovirus et rotavirus évalués en parallèle



CNR virus des gastro-entérites

Concernant la détection des NoV, les neuf troussees évaluées présentaient une sensibilité moyenne (78,0% pour le kit R-Biopharm, 82,0% pour le kit Eurobio Ingen et 86,0% pour le kit Immundiagnostik), bonne (92,0% pour les kits Altona, CerTest Biotec, PrimerDesign et 94,0% pour le kit Seegene) voire excellente (98,0% pour les kits Diagenode et Fast-Track Diagnostics) (**Figure 7**). Ces différences de sensibilité n'étaient toutefois pas statistiquement significatives, sauf entre le kit R-Biopharm (78,0% ; IC 95% : 64,0-88,5) vs. les kits Diagenode et Fast-Track Diagnostics (98,0% ; IC 95% : 89,4-99,9). Les spécificités des neuf troussees étaient excellentes, comprises entre 97,4 et 100 % (Figure 3). Des LR+ élevés (37,2-95,1), des LR- faibles (0.021-0.228) et des DOR élevés (294,9-3201) étaient observés (**Tableau 8**).

Tableau 8. Performances des troussees de détection norovirus

TROUSSEES	VIRUS	NOMBRE TOTAL D'ÉCHANTILLONS	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS TESTÉS AVEC LA TECHNIQUE DE RÉFÉRENCE		RAPPORT DE VRAISEMBLANCE POSITIF		RAPPORT DE VRAISEMBLANCE NÉGATIF		DIAGNOSTIC ODDS RATIO	
			POSITIF	NÉGATIF	LR+	(IC 95%)	LR-	(IC 95%)	DOR	(IC 95%)
Altona RealStar® Norovirus RT-PCR Kit 2.0	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	91.2	(5.8-1439.5)	0.089	(0.037-0.215)	1023.0	(53.6-19526.7)
	GI	99	25	74 ^b	118.3	(7.4-1886.9)	0.213	(0.101-0.447)	555.4	(29.5-10463.7)
	GII	99	26	73 ^c	145.3	(9.2-2301.8)	0.019	(0.001-0.291)	7791.0	(150.8-402617.0)
CerTest Biotec Viasure Norovirus GI + GII Real Time PCR Detection kit	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	91.2	(5.8-1439.5)	0.089	(0.037-0.215)	1023.0	(53.6-19526.7)
	GI	99	25	74 ^b	65.1	(9.2-458.7)	0.122	(0.042-0.352)	535.3	(53.0-5408.5)
	GII	99	26	73 ^c	134.3	(8.5-2132.6)	0.093	(0.029-0.304)	1440.6	(66.8-31052.1)
Primerdesign Genesig® Advanced Kit Norovirus Genogroups 1 and 2	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	91.2	(5.8-1439.5)	0.089	(0.037-0.215)	1023.0	(53.6-19526.7)
	GI	99	25	74 ^b	124.0	(7.8-1975.8)	0.174	(0.075-0.404)	711.9	(36.9-13750.2)
	GII	99	26	73 ^c	137.9	(8.7-2187.0)	0.056	(0.012-0.265)	2465.0	(97.3-62456.1)
R-Biopharm RIDA®GENE Norovirus I & II	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	75.9	(4.8-1201.2)	0.228	(0.137-0.379)	333.2	(19.0-5831.8)
	GI	99	25	74 ^b	88.2	(5.5-1422.9)	0.407	(0.255-0.649)	217.0	(12.1-3902.4)
	GII	99	26	73 ^c	132.5	(8.3-2103.5)	0.093	(0.029-0.304)	1421.0	(65.9-30633.2)
Diagenode G-DiaNota™ Norovirus I/II Rotavirus	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	37.2	(5.4-257.7)	0.021	(0.003-0.143)	1813.0	(109.8-29948.4)
	GI	99	25	74 ^b	30.2	(7.7-118.5)	0.041	(0.006-0.282)	732.0	(63.4-8452.9)
	GII	99	26	73 ^c	5.0	(3.0-8.3)	0.048	(0.007-0.327)	104.2	(12.8-847.0)
Fast-Track Diagnostics FTIyo Viral Gastroenteritis	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	95.1	(6.0-1499.9)	0.030	(0.006-0.144)	3201.0	(127.3-80518.3)
	GI	99	25	74 ^b	139.5	(8.8-2212.5)	0.058	(0.012-0.275)	2401.0	(94.7-60885.6)
	GII	99	26	73 ^c	137.9	(8.7-2187.0)	0.056	(0.012-0.265)	2465.0	(97.3-62456.1)
Immundiagnostik MutaPLEX® GastroSys 1	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	42.1	(6.0-294.2)	0.143	(0.072-0.284)	294.9	(34.9-2494.4)
	GI	NA ^e	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	GII	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Seegene Allplex™ GI-Virus	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	93.1	(5.9-1470.0)	0.069	(0.025-0.191)	1343.6	(67.6-26713.0)
	GI	99	25	74 ^b	129.8	(8.2-2064.8)	0.136	(0.051-0.359)	957.9	(47.7-19248.1)
	GII	99	26	73 ^c	48.4	(9.9-236.2)	0.019	(0.001-0.295)	2561.7	(101.2-64848.3)
Eurobio Ingen EurobioPlex Norovirus GI/GII	NoV GI+GII	99	50	49 ^a	81.4	(5.1-1287.0)	0.188	(0.106-0.334)	432.5	(24.4-7655.0)
	GI	99	25	74 ^b	95.2	(5.9-1531.2)	0.368	(0.222-0.611)	258.8	(14.3-4672.3)
	GII	99	26	73 ^c	139.8	(8.8-2217.2)	0.056	(0.012-0.265)	2499.0	(98.6-63310.5)

a. Les échantillons négatifs en norovirus par la technique de référence et présentant un résultat ininterprétable avec la trousse testée, du fait de la présence d'inhibiteurs de la RT-qPCR, sont exclus de l'analyse pour R-Biopharm (n=1), Diagenode (n=11) et Fast-track Diagnostics (n=1).

b. 49 échantillons norovirus génogroupe I négatifs et 25 échantillons norovirus génogroupe II positifs inclus. Les échantillons négatifs en norovirus génogroupe I par la technique de référence et présentant un résultat ininterprétable avec la trousse testée, du fait de la présence d'inhibiteurs de la RT-qPCR, sont exclus de l'analyse pour R-Biopharm (n=1), Diagenode (n=11) et Fast-track Diagnostics (n=1).

c. 49 échantillons norovirus génogroupe II négatifs et 24 échantillons norovirus génogroupe I positifs inclus. Les échantillons négatifs en norovirus génogroupe II par la technique de référence et présentant un résultat ininterprétable avec la trousse testée, du fait de la présence d'inhibiteurs de la RT-qPCR, sont exclus de l'analyse pour Primerdesign (n=1), R-Biopharm (n=1), Diagenode (n=11) et Fast-track Diagnostics (n=1).

NA : Non applicable (pas de différenciation des norovirus génogroupe I et des norovirus génogroupe II).

Concernant la détection des RVA, les huit troussees évaluées présentaient une sensibilité élevée (94,3-98,1%) et une excellente spécificité (100%) (**Figure 7**). Des LR+ élevés (74,4-97,2), des LR- faibles (0.028-0.065) et des DOR très élevés (1428,4-3465) étaient observés (**Tableau 9**). Ces données indiquaient une association forte entre les résultats des tests RT-PCR évalués et la présence de rotavirus, les tests évalués étaient donc hautement discriminants et adaptés au diagnostic des infections à rotavirus. Les IC 95% de l'ensemble des indicateurs de performance diagnostique se chevauchaient, la performance diagnostique pour la détection des rotavirus était donc similaire pour les huit troussees évaluées.

Tableau 9. Performances de trousse de détection rotavirus

TROUSSES	VIRUS	NOMBRE TOTAL D'ÉCHANTILLONS	NOMBRE D'ÉCHANTILLONS TESTÉS AVEC LA TECHNIQUE DE RÉFÉRENCE		RAPPORT DE VRAISEMBLANCE POSITIF		RAPPORT DE VRAISEMBLANCE NÉGATIF		DIAGNOSTIC ODDS RATIO	
			POSITIF	NÉGATIF	LR+	(IC 95%)	LR-	(IC 95%)	DOR	(IC 95%)
Altona RealStar® Rotavirus RT-PCR Kit 1.0	RVA	102	53	49 ^a	77.8	(4.9-1222.5)	0.028	(0.006-0.136)	2765.0	(109.7-69698.0)
CerTest Biotec Viasure Rotavirus Real Time PCR Detection Kit	RVA	102	53	49 ^a	97.2	(6.2-1533.5)	0.028	(0.006-0.136)	3465.0	(137.9-87077.5)
Primerdesign Genesig® Advanced Kit Human Rotavirus A	RVA	102	53	49 ^a	95.4	(6.0-1504.7)	0.047	(0.014-0.157)	2039.4	(95.5-43553.4)
R-Biopharm RIDA®GENE Viral Stool Panel II	RVA	102	53	49 ^a	93.5	(5.9-1474.1)	0.047	(0.014-0.157)	1998.2	(93.5-42684.7)
Diagenode G-DiaNota™ Norovirus I/II Rotavirus	RVA	102	53	49 ^a	74.4	(4.7-1169.0)	0.047	(0.014-0.157)	1586.2	(74.0-33997.7)
Fast-Track Diagnostics FTIyo Viral Gastroenteritis	RVA	102	53	49 ^a	93.5	(5.9-1474.1)	0.047	(0.014-0.157)	1998.2	(93.5-42684.7)
Immundiagnostik MutaPLEX® GastroSys 1	RVA	102	53	49 ^a	93.5	(5.9-1475.8)	0.065	(0.024-0.180)	1428.4	(71.9-28377.3)
Seegene Allplex™ GI-Virus	RVA	102	53	49 ^a	97.2	(6.2-1533.5)	0.028	(0.006-0.136)	3465.0	(137.9-87077.5)

a. Les échantillons négatifs en rotavirus par la technique de référence et présentant un résultat ininterprétable avec la trousse testée, du fait de la présence d'inhibiteurs de la RT-qPCR, sont exclus de l'analyse pour Altona (n=10), R-Biopharm (n=1), Diagenode (n=11) et Fast-track Diagnostics (n=1).

Il apparaît que ces performances diagnostiques étaient génogroupe-dépendantes :

- pour le génogroupe I, les sensibilités des trousse R-Biopharm et Eurobio Ingen étaient médiocres (60,0 et 64,0% respectivement) et nettement moins élevées que celles des autres trousse (80,0%-88,0%) et notamment des trousse Diagenode et Fast-Track Diagnostics qui présentaient la meilleure sensibilité (96,0%). Cependant, seule la différence de sensibilité entre le kit R-Biopharm (60,0% ; IC 95% : 38,7-78,9) et les kits Diagenode et Fast-Track Diagnostics (96,0% ; IC 95% 79,6-99,9) était statistiquement significative. Les spécificités étaient quant à elles toutes excellentes (entre 96,8 et 100%).
- concernant le génogroupe II, les sensibilités des trousse étaient élevées et similaires, comprises entre 88,5 pour Immundiagnostik et 100% pour Altona et Seegene. Les trousse présentaient toutes d'excellentes spécificités comprises entre 98,6 et 100%, sauf la trousse Diagenode qui présentait une spécificité médiocre (80,6%), statistiquement différente des autres trousse (pas de chevauchement des IC 95%). De fait, le LR+ de la trousse Diagenode était plus faible (5) que celui des autres trousse (48,4-145,3).

En conclusion, les huit trousse de détection des RVA sont toutes bien adaptées au diagnostic de ces virus dans les selles.

Les trousse Altona, CerTest Biotec, PrimerDesign, Fast-Track Diagnostics, Immundiagnostik, et Seegene sont adaptées au diagnostic des norovirus dans les selles. La sensibilité pour la détection des norovirus génogroupe I de la trousse Eurobio Ingen et surtout de la trousse R-Biopharm, ainsi que la spécificité vis-à-vis des norovirus du génogroupe II de la trousse Diagenode doivent être améliorées avant que ces trousse puissent être utilisées pour le diagnostic routinier des norovirus.

3.2. CONSEILS AUX PROFESSIONNELS ET AUX AUTORITÉS DE SANTÉ

3.2.1. Site internet « www.cnr-ve.org »

Le site nous permet une présentation du CNR et de ses missions. Il détaille les différentes procédures : conditions de prélèvement des selles, de leur conservation et de leur acheminement au CNR, les virus recherchés au CNR.

Il est continuellement mis à jour.

Sur le site se trouvent également toutes les communications et publications du CNR et met à disposition les rapports d'activité du CNR.

Lien internet : <http://www.cnr-ve.org>



3.2.2. Activité de conseil

- **Haute Autorité de Santé (HAS)** : dans le cadre de la révision du dossier de recommandation de la vaccination anti-rotavirus, le CNRvge a été sollicité en 2022 pour fournir un dossier épidémiologique sur la circulation des rotavirus et leur génotype en France.
- **Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM)** : le responsable du CNRvge a été membre titulaire du groupe de travail « sécurité virale » dès 2018 puis membre titulaire du Comité Scientifique Permanent « Sécurité et Qualité des Médicaments », section « sécurité virale et sécurité microbiologique » depuis 2019 où il est intervenu à plusieurs reprises afin d'élaborer des recommandations pour la sécurisation des dons de transplantation de microbiote fécal (TMF).
- **Haut Conseil Santé Public** : Le CNR des virus des gastro-entérites répond à la demande des autorités lorsque le sujet concerne son domaine de compétence.
- Comme par le passé, le CNR des virus des gastro-entérites continue d'apporter son aide ou ses conseils aux établissements publics, aux établissements de soins ou d'hébergement (publics ou privés), aux administrations qui lui en font la demande.
- Sous certaines conditions, nos conseils peuvent être dispensés aux entreprises privées.

3.2.3. Activité de formation

L'activité de formation se fait essentiellement par l'accueil et l'encadrement de stagiaires. Une formation par séminaire et publications didactiques est également proposée.

- **chercheurs invités** : 2017 : Dr. Nafissatou OUEDRAOGO (Université de Ouagadougou, Burkina Faso) ; 2018-2021 : Dr. Khira SDIRI-LOULIZI (Université Monastir, Tunisie)
- **doctorants (PhD)** : 2017 : Vincent TESSON (INRA Avignon) ; 2019-21 : Dr. Georges TARRIS ; 2021-23 : Nicole ABOU-AHMAD (Université de Bourgogne)
- **année recherche (médecine)** : 2017-18 : Georges TARRIS (DES d'anatomo-pathologie)
- **thèse (médecine)** : 2018-19 : Georges TARRIS (DES d'anatomo-pathologie)
- **thèse (pharmacie)** : 2017-18 : Bastien CAUQUIL (DES de biologie médicale), 2019-20 : Nicolas AUFFRET (DES de biologie médicale), Lola ELZIERE (DES de biologie médicale)
- **stage de TLM** : 2017 : Mlle Océane CORDIER (IUT de Dijon) ; 2018 : Camille LAMARCHE (IUT de Dijon) ; 2019 : Clara THIBAUT (IUT de Dijon)
- **stage de M1 (médecine)** : 2017 : Léna EBERHART, Alizé GODIN, Justine CHOLLET, Maria BOLDOR ; 2018 : Jean-Baptiste COTS, Marie DESCOINS, Arthur GOYARD, Paul-Louis GRALL ; 2019 : Rémi HONGROIS, Romane HOUDELETTE, Julia VAST, Hasna MABROUKI, Anaïs MAILLARD ; 2022 : Paul Mc CARTHY, Almass DJEMAA.

3.3. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE

Éléments clefs de l'activité de surveillance du CNRVge entre 2017 et 2021 :

- *surveillance des épidémies de cas groupés :*
 - analyses de 861 épidémies : 72% sont survenues de novembre à mars,
 - 585 (67,9%) épidémies sont survenues dans les EHPAD ou dans des hôpitaux,
 - transmission le plus fréquemment de personne-à-personne (51,1%) mais près d'un quart des épidémies ont une transmission d'origine inconnue,
- *surveillance du réseau national rotavirus : analyses de 2723 prélèvements de selles : prépondérance du génotype G9P[8] (52,1%), suivi des souches G3eP[8] (20,1%), G1P[8] (10,2%) et G2P[4] (7,7%).*
- *recherche systématique du coronavirus SARS-CoV-2 dans les selles (selon DPS de l'ANSM) : 1727 selles investiguées dont 39 positifs (2,3%).*

3.3.1. Description des réseaux partenaires

3.3.1.1. Réseau de surveillance des cas groupés de gastro-entérites

3.3.1.1.1. Réseaux de surveillance

- **Santé Publique France (SPF)** et les **CIRE**, les **Délégations territoriales des ARS** et d'autre part les **services hospitaliers**, les **CLIN** ou les **services d'hygiène des établissements de soins**.

Les **Délégations territoriales des ARS** ou les **CIRE** notifient les épidémies et déclenchent l'alerte et l'investigation virologique. Plus rarement, l'alerte nous est donnée par un service hospitalier, le **CLIN** ou le service d'hygiène d'un établissement de soins. Toutes les données nous parvenant sont immédiatement transmises à **SPF** pour la coordination des investigations épidémiologiques et virologiques. **SPF et les CIRE** réalisent les investigations épidémiologiques.

- **Réseau Sentinelles** : nos interlocuteurs en 2018 étaient Thomas GORONFLOT et Lucie FOURNIER.

- **Les autres laboratoires de référence :**

- **IFREMER – Centre de Nantes** (Dr. Françoise LE GUYADER) : laboratoire de référence pour les virus entériques dans les **produits de la mer**. Ce laboratoire fait partie du même réseau européen que le nôtre (NoroNet). Nous collaborons étroitement et en temps réel pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est un produit de la mer (alerte, investigation, comparaison des souches etc...).
- **ANSES – Unité de virologie des Aliments et de l'eau**, Maisons-Alfort (Dr. Sylvie PERELLE) : laboratoire de référence pour **l'eau et les aliments**. Nous collaborons avec ce laboratoire pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est alimentaire ou hydrique (alerte, investigation, comparaison des souches...).
- **ANSES – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy**, 40, Rue Lionnois F-54000 NANCY (Dr Benoît GASSILLOUD).
- **Centre National de Référence Virus des hépatites à transmission entériques (Hépatites A et E)**. AP-HP - Paris Paul Brousse (Pr. Anna- Maria ROQUE-AFONSO) et CHU de Toulouse (Pr. Jacques IZOPET). Nous collaborons étroitement avec ces CNR, notamment pour les épidémies d'origine hydrique ou alimentaire.
- **Centre National de Référence Entérovirus et Paréchovirus**, Hospices Civils de Lyon (Pr. Bruno LINA) et CHU de Clermont-Ferrand (Pr. Cécile HENQUELL). Nous collaborons étroitement avec les CNR : nous assurons la détection dans les selles, en cas de positivité le virus ou le prélèvement est adressé au CNR des entérovirus et paréchovirus pour une caractérisation moléculaire et une enquête virologique spécifique.

3.3.1.1.2. Provenance des échantillons et temporalité

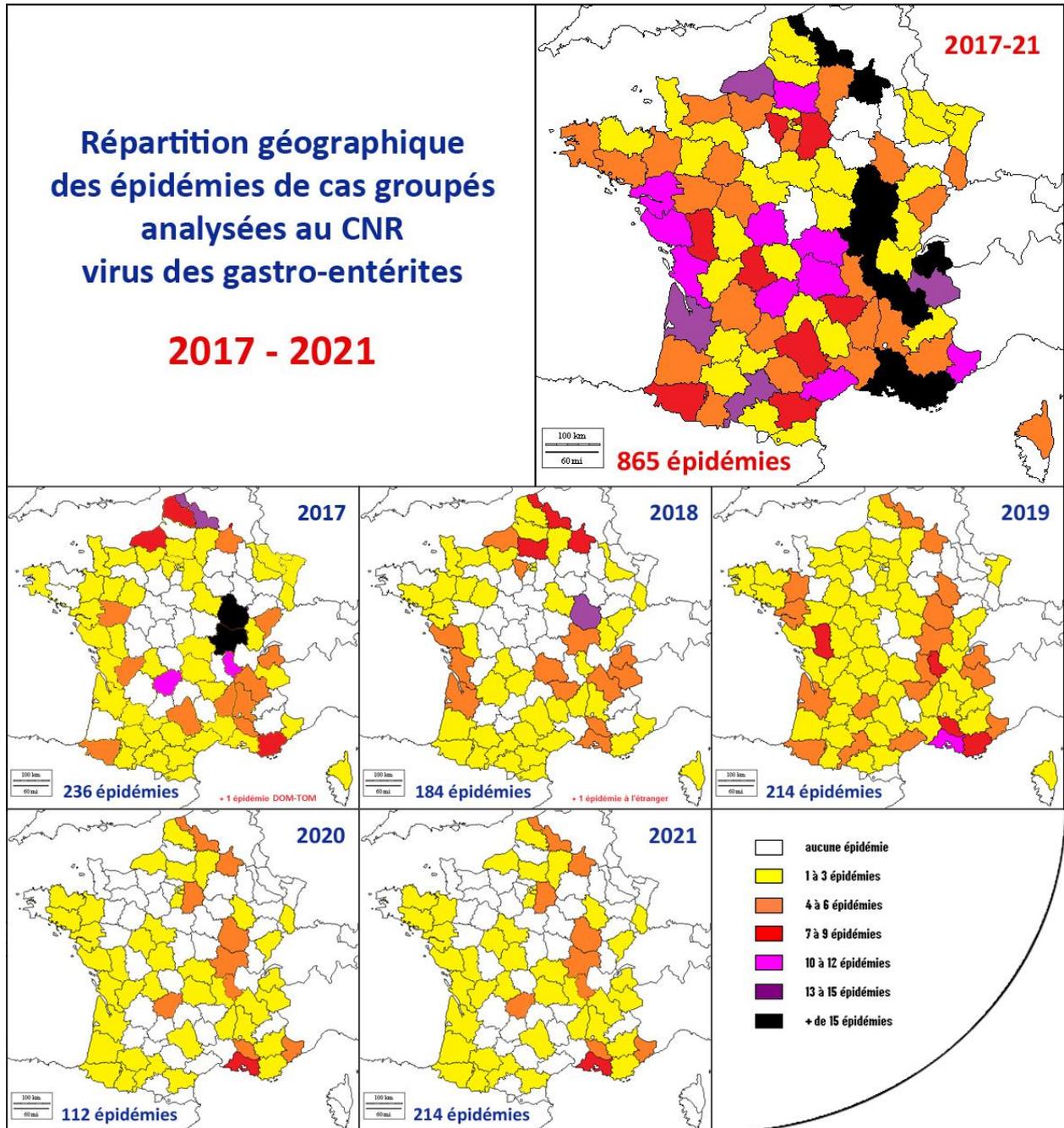


Figure 8 : Épidémies de cas groupés. Répartition géographique des épidémies reçues entre 2017 et 2021. Bilan de l'activité du CNR en 2017, 2018, 2019, 2020 et 2021. Au cours de cette mandature, huit départements n'ont jamais adressé de prélèvements : 10, 18, 2A, 28, 51, 55, 88 et 90. À noter toutefois que tous les départements nous ont envoyé des prélèvements au moins une fois depuis 2012 à l'exception de l'Aube (10) et l'Eure-et-Loire (28).

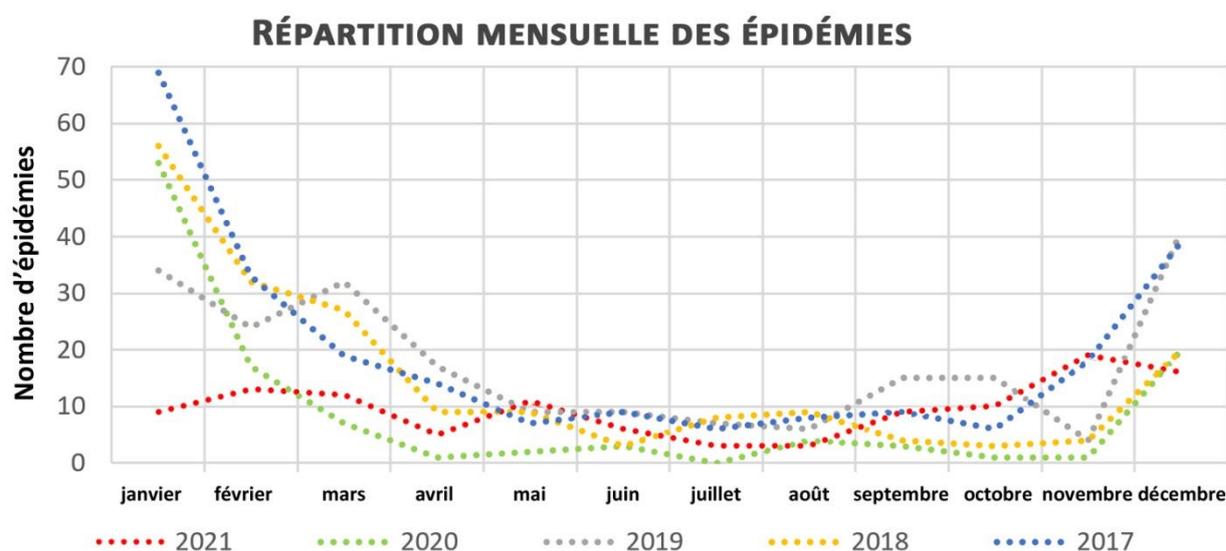


Figure 9 : *Épidémies de cas groupés. Répartition mensuelle des épidémies reçues. Bilan de l’activité du CNR en 2017, 2018, 2019, 2020 et 2021.*

3.3.1.2. Réseau de surveillance des gastro-entérites aiguës à rotavirus

Une surveillance moléculaire des souches de rotavirus en milieu pédiatrique avait été mise en place en prévision de la prochaine disponibilité de vaccins anti-rotavirus. Depuis 2004 et surtout l’hiver 2006 nous avons développé un réseau de surveillance épidémiologique et moléculaire des rotavirus comprenant 11 CHU de province, 3 établissements de l’Assistance Publique de Paris (hôpitaux de Saint Vincent de Paul-Necker, Robert Debré et Trousseau) et 2 CHR (Charleville-Mézières et Orléans). Depuis 2017, le CHU de Toulouse et le CHR de Cahors ont rejoint le réseau rotavirus. Ce réseau national est connecté à un plus large réseau européen, le réseau **EuroRotaNet** (Figure 10).

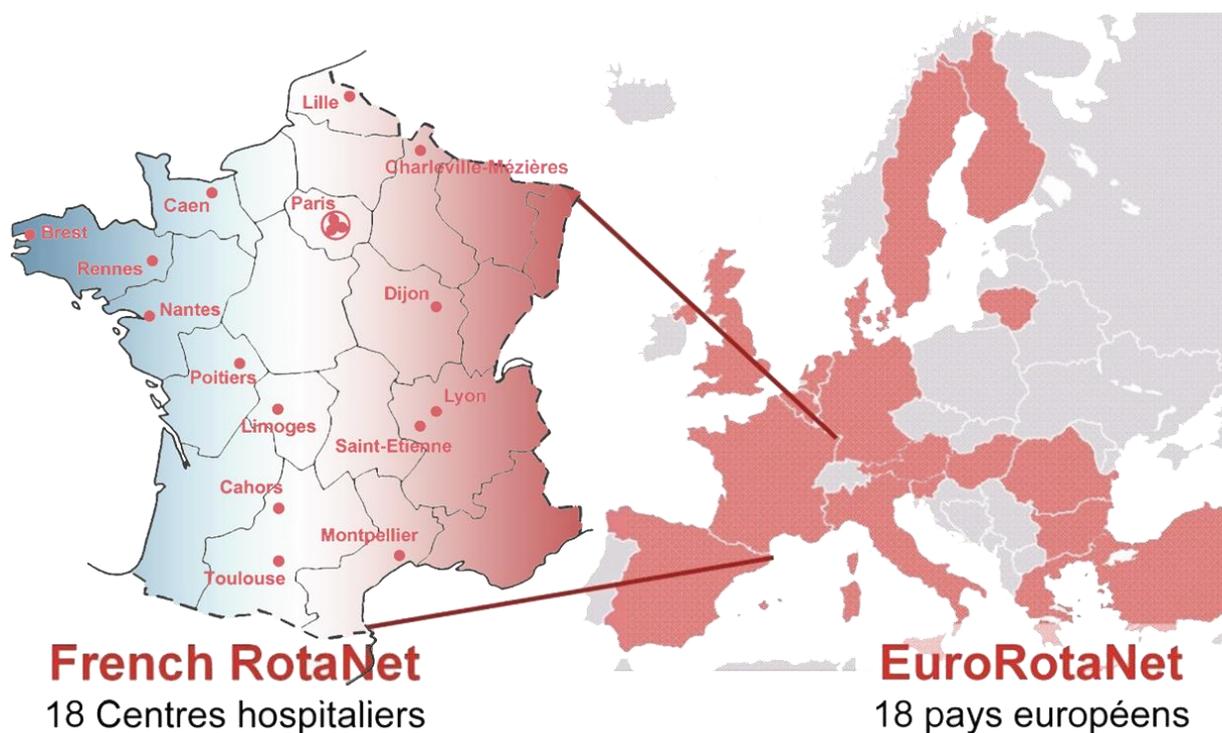


Figure 10 : *Répartition des centres participant au réseau national rotavirus en 2020. Participation des CHU/CHRU de Brest, Caen, Dijon, Lille, Limoges, Lyon, Montpellier, Nantes, Paris (Necker-Enfants Malades, Robert-Debré, Armand-Trousseau), Poitiers, Rennes, Saint-Etienne, Toulouse et des CH de Cahors, Charleville-Mézières, Lille (GHICL).*

3.3.2. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des épidémies de cas groupés

3.3.2.1. Saisonnalité des épidémies

La saisonnalité hivernale est très marquée pour les épidémies survenant en EHPAD et hôpitaux, au contraire de celles survenant dans les centres pour adultes ou lors de réceptions (**Figure 11**). On retrouve cette même différence si l'on compare les épidémies transmises de personne-à-personne (hivernales) de celle transmises par les aliments ou l'eau (toute l'année).

Entre 2017 et 2021, 861 épidémies ont été expertisées ; 72,0% de ces épidémies sont survenues entre novembre et mars (69,1% de 2012 à 2021) et 79,8% entre octobre et avril (80,2% de 2012 à 2021). Les années 2020 et 2021 ont été perturbées par la crise sanitaire de COVID et les restrictions de déplacement ou de regroupement de personnes. Néanmoins, cette forte saisonnalité automno-hivernale concerne le plus souvent les épidémies survenant en établissements de soins et non pas celles survenant en collectivités ou dans les restaurants qui ont lieu toute l'année. Cette observation est comparable aux différences de saisonnalité entre les épidémies transmises de personne-à-personne et celles d'origine alimentaire ou hydriques.

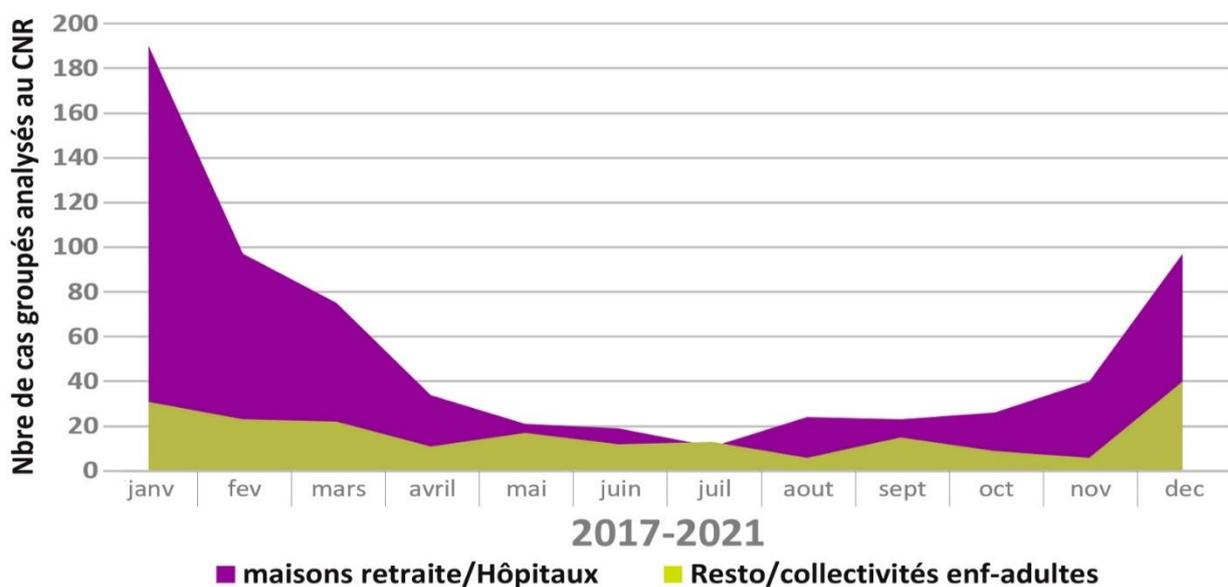


Figure 11 : Répartition temporelle des cas groupés pris en charge par le CNR en fonction de l'origine de l'épidémie. Bilan cumulé de l'activité du CNR entre 2017 et 2021.

3.3.2.2. Sites et modes de transmission

Malgré le contexte sanitaire particulier depuis 2020, les modes de transmission observés en 2020 et 2021 sont globalement similaires à l'ensemble de la période 2012-2021 (**Tableau 10**).

– Site ou établissement :

Entre 2017 et 2021, près des deux tiers des 861 épidémies sont survenues dans des EHPAD avec 585 épidémies (67,9%), ce qui correspond à la moyenne observée depuis 2012. Les autres sites sont des services hospitaliers (73 épidémies ; 8,5%), des réceptions ou banquets (103 épidémies ; 12,0%) des collectivités d'adultes (40 épidémies ; 4,7%) ou d'enfants (60 épidémies ; 6,7%).

– Mode de transmission :

Durant cette période 2017-2021, le mode de transmission de **personne-à-personne, le plus fréquent, est incriminé dans 440 épidémies soit 51,1% des cas**. Cependant, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour près d'un tiers des épidémies (207 épidémies ; 24,0%). Une origine alimentaire a été à l'origine de 206 épidémies (23,9%) où 84 épidémies (40,7% ; 9,8% de l'ensemble) étaient dues à des fruits de mer/poissons. Globalement, ces résultats sont superposables à ceux constatés au cours de la période 2012-2016.

– Relation site et mode de transmission :

Pour la période 2017-2021, la majorité des épidémies est advenue dans des EHPAD ou des services hospitaliers avec une fréquence similaire qu’au cours de la période 2012-2016 (76,4% vs. 78,1%). Le principal mode de propagation des virus entériques dans ces établissements était une transmission de personne-à-personne (61,7% de 2017 à 2021 vs. 61,3% de 2012 à 2016). Cependant, les causes inconnues restent encore fréquentes (27,3% de 2017 à 2021 vs. 32,6% de 2012 à 2016). L’origine alimentaire y est toutefois retrouvée dans quelques épidémies (10,2% de 2017 à 2021 vs. 5,7% de 2012 à 2016). Comme attendu, une origine alimentaire est principalement trouvée dans les épidémies survenant lors d’une réception (94,2% de 2017 à 2021 vs. 9,13% de 2012 à 2016).

Tableau 10 : Répartition des épidémies selon le site et le mode de contamination.

sites/transmissions		pers-à-pers	inconnu	aliments	hydrique	Total
2017	EHPAD	124 (52,5%)	46 (19,5%)	9 (3,8%)	1 (0,4%)	180 (76,3%)
	hôpitaux	12 (5,1%)	11 (4,7%)	2 (0,8%)	0 -	25 (10,6%)
	réception	2 (0,8%)	1 (0,4%)	18 (7,6%)	0 -	21 (8,9%)
	centre enfants	2 (0,8%)	0 -	0 (0,0%)	0 -	2 (0,8%)
	centre adultes	2 (0,8%)	1 (0,4%)	5 (2,1%)	0 -	8 (3,4%)
	Total	142 (60,2%)	59 (25,0%)	34 (14,4%)	1 (0,4%)	236
2018	EHPAD	83 (45,1%)	34 (18,5%)	16 (8,7%)	2 (1,1%)	135 (73,4%)
	hôpitaux	4 (2,2%)	1 (0,5%)	2 (1,1%)	0 -	7 (3,8%)
	réception	0 -	0 (0,0%)	25 (13,6%)	0 -	25 (13,6%)
	centres enfants	1 (0,5%)	0 -	8 (4,3%)	0 -	9 (4,9%)
	centres adultes	2 (1,1%)	2 (1,1%)	4 (2,2%)	0 -	8 (4,6%)
	Total	90 (48,9%)	37 (20,1%)	55 (29,9%)	2 (1,1%)	184
2019	EHPAD	79 (37,6%)	36 (17,1%)	13 (6,2%)	1 (0,5%)	129 (61,4%)
	hôpitaux	8 (3,8%)	2 (1,0%)	2 (1,0%)	0 -	12 (5,7%)
	réception	0 -	1 (0,5%)	34 (16,2%)	0 -	35 (16,7%)
	centre enfants	4 (1,9%)	3 (1,4%)	7 (3,3%)	1 (0,5%)	15 (7,1%)
	centre adultes	3 (1,4%)	5 (2,4%)	10 (4,8%)	1 (0,5%)	19 (9,0%)
	Total	94 (44,8%)	47 (22,4%)	66 (31,4%)	3 (1,1%)	210
2020	EHPAD	53 (47,3%)	23 (20,5%)	9 (8,0%)	0 -	85 (75,9%)
	hôpitaux	7 (6,3%)	2 (1,8%)	1 (0,9%)	0 -	10 (8,9%)
	réception	0 -	0 -	12 (10,8%)	0 -	12 (10,7%)
	centres enfants	0 -	1 (0,9%)	0 -	0 -	1 (0,9%)
	centres adultes	2 (1,8%)	1 (0,9%)	1 (0,9%)	0 -	4 (3,6%)
	Total	62 (55,4%)	27 (24,1%)	23 (20,5%)	0 -	112
2021	EHPAD	30 (25,2%)	17 (14,3%)	8 (8,0%)	1 (0,8%)	56 (47,1%)
	hôpitaux	6 (5,0%)	8 (6,7%)	5 (0,9%)	0 -	19 (16,0%)
	réception	1 (0,8%)	1 (0,8%)	8 (10,8%)	0 -	10 (8,4%)
	centre enfants	15 (12,6%)	10 (8,4%)	7 -	1 (0,8%)	33 (27,7%)
	centre adultes	0 -	1 (0,8%)	0 (0,9%)	0 -	1 (0,8%)
	Total	52 (43,7%)	37 (31,1%)	28 (20,5%)	2 (1,7%)	119
2017-2021	EHPAD	369 (42,9%)	156 (18,1%)	55 (6,4%)	5 (0,6%)	585 (67,9%)
	hôpitaux	37 (4,3%)	24 (2,8%)	12 (1,4%)	0 -	73 (8,5%)
	réception	3 (0,3%)	3 (0,3%)	97 (11,3%)	0 -	103 (12,0%)
	centres enfants	22 (2,6%)	14 (1,6%)	22 (2,6%)	2 (0,2%)	60 (7,0%)
	centres adultes	9 (1,0%)	10 (1,2%)	20 (2,3%)	1 (0,1%)	40 (4,7%)
	Total	440 (51,1%)	207 (24,0%)	206 (23,9%)	8 (0,9%)	861

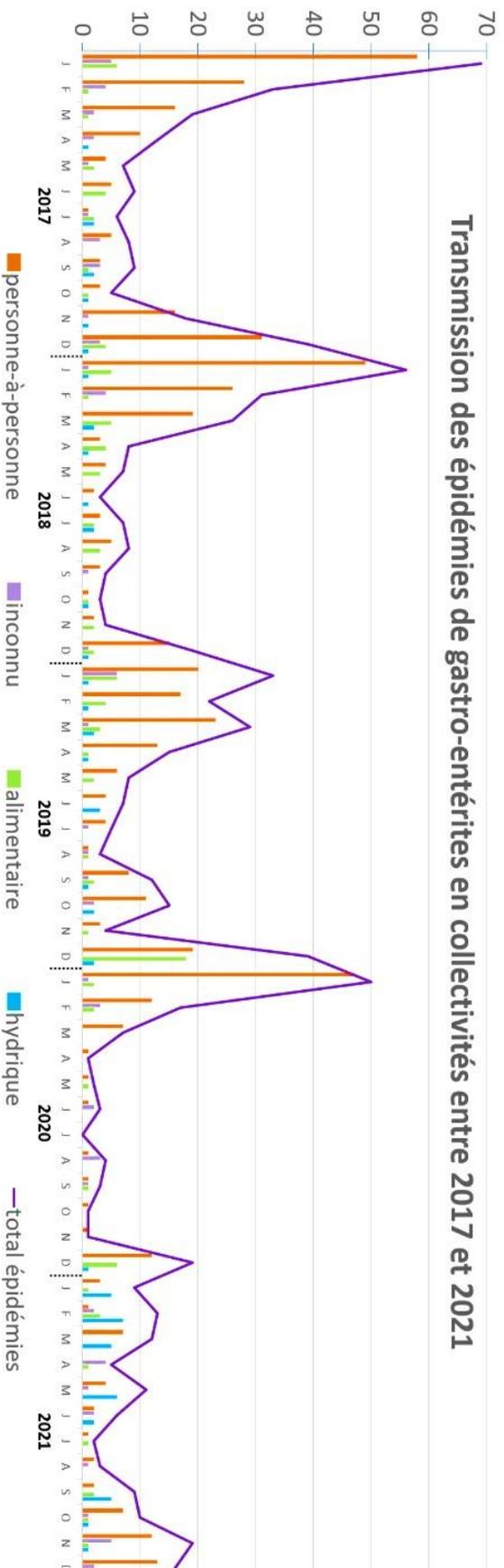
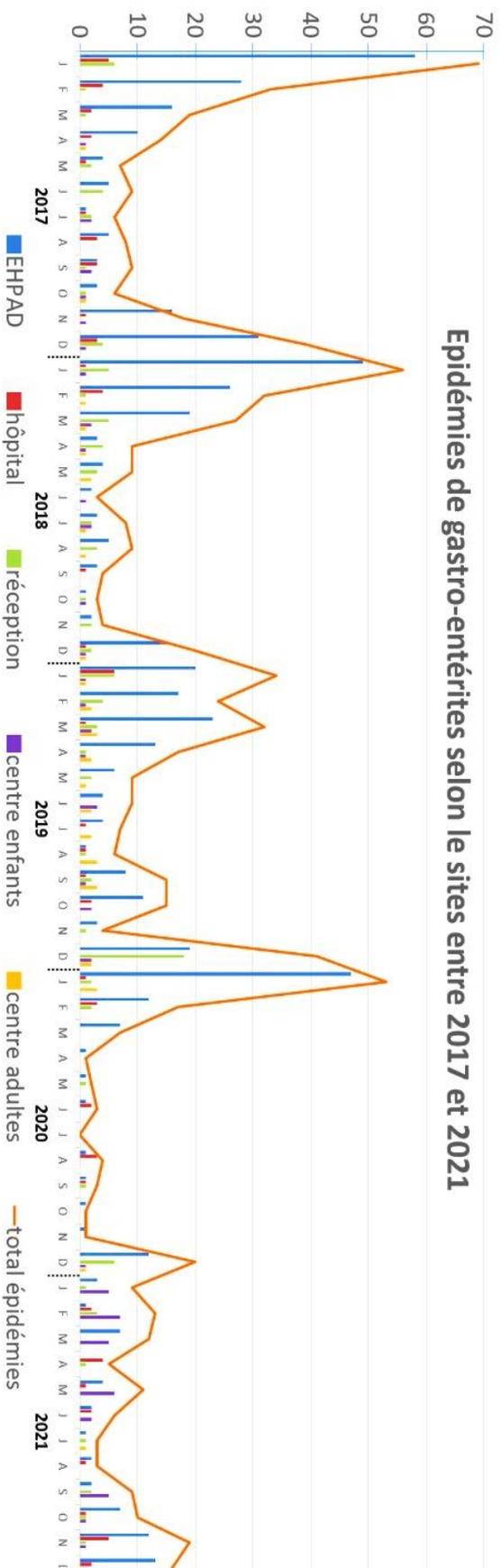


Figure 12 : Lieux et modes de transmission des épidémies de gastro-entérites entre 2017 et 2021.

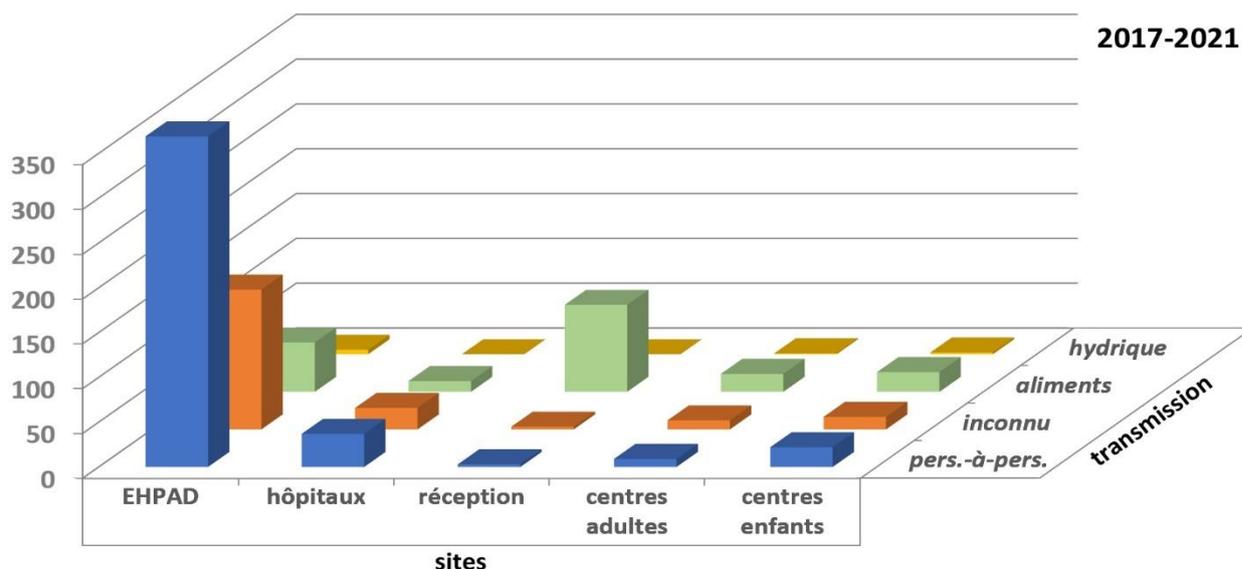


Figure 13 : Relation entre type d'établissement et le mode de transmission.
Bilan cumulé de l'activité du CNR de 2017 à 2021.

3.3.3. Surveillance des gastro-entérites à rotavirus de 2006 à 2021

Dix-huit centres participent à cette étude depuis 2006 : CHU/CHRU de Brest, Caen, Dijon, Lille, Limoges, Lyon, Montpellier, Nantes, Paris (Necker-Enfants Malades, Robert-Debré, Armand-Trousseau), Poitiers, Rennes, Saint-Etienne, Toulouse et des CH de Cahors, Charleville-Mézières, Lille (GHICL).

Au total, nous avons reçu et analysé **11.798 prélèvements de rotavirus entre 2006 et 2021**.

3.3.3.1. Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus

Les infections à rotavirus sont saisonnières et surviennent durant les mois d'hiver (**Figure 14**). Au niveau européen, nos études avec le réseau EuroRotaNet montrent un gradient Sud-Nord et Ouest-Est avec un pic d'infections plus précoce en Espagne (décembre à février) et plus tardif (avril-mai) dans les pays du nord et de l'est de l'Europe.

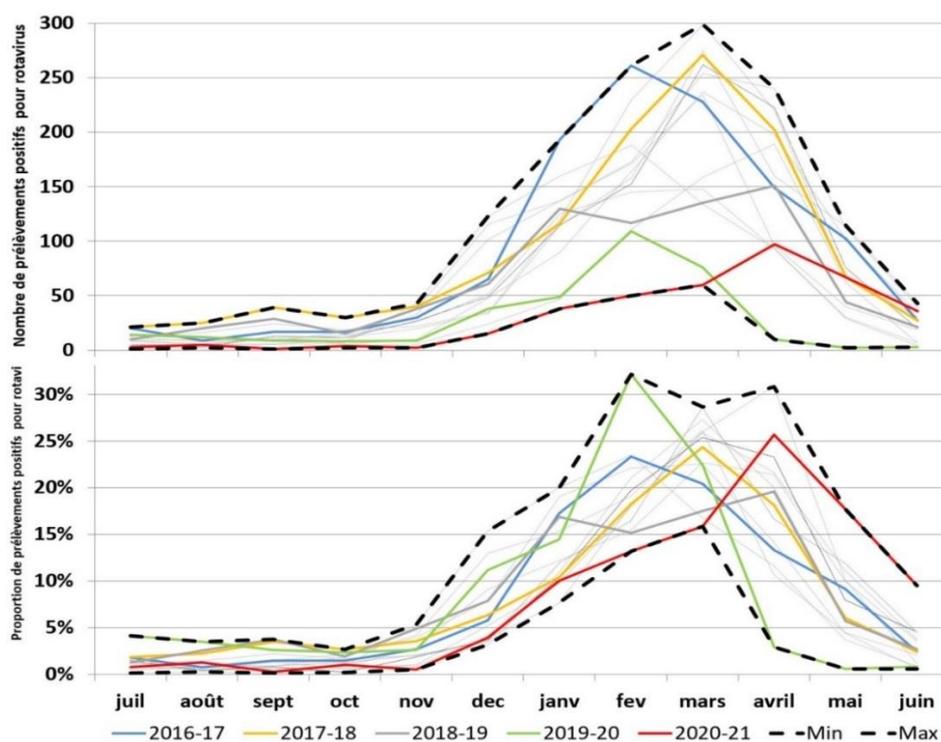


Figure 14 : Distribution temporelle des infections à rotavirus de 2006 à 2021.

3.3.3.2. Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P (Figure 15)

Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2020-2021 est de **11688 souches de rotavirus** totalement ou partiellement caractérisées (Tableau 11). Les quatre principales combinaisons de génotypes G/P (>1%) ont été durant ces quinze années : **G1P[8] (44,8%)** suivie de **G9P[8] (29,3%)**, cumulant à elles seules **74,1% des souches détectées**, puis **G3P[8] (10,4%)** et **G2P[4] (6,1%)**. Les autres combinaisons d'importance significative étaient **G4P[8] (2,2%)** et **G12P[8] (1,9%)**.

Ainsi, les six combinaisons génotypiques désormais classiques (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] et G12P[8]) représentaient 94,7% des souches caractérisées. Les **génotypes ou combinaisons atypiques** (incluant notamment quelques associations de génotypes G et P classiques) représentent **1,8 %** et les infections mixtes 1,7%.

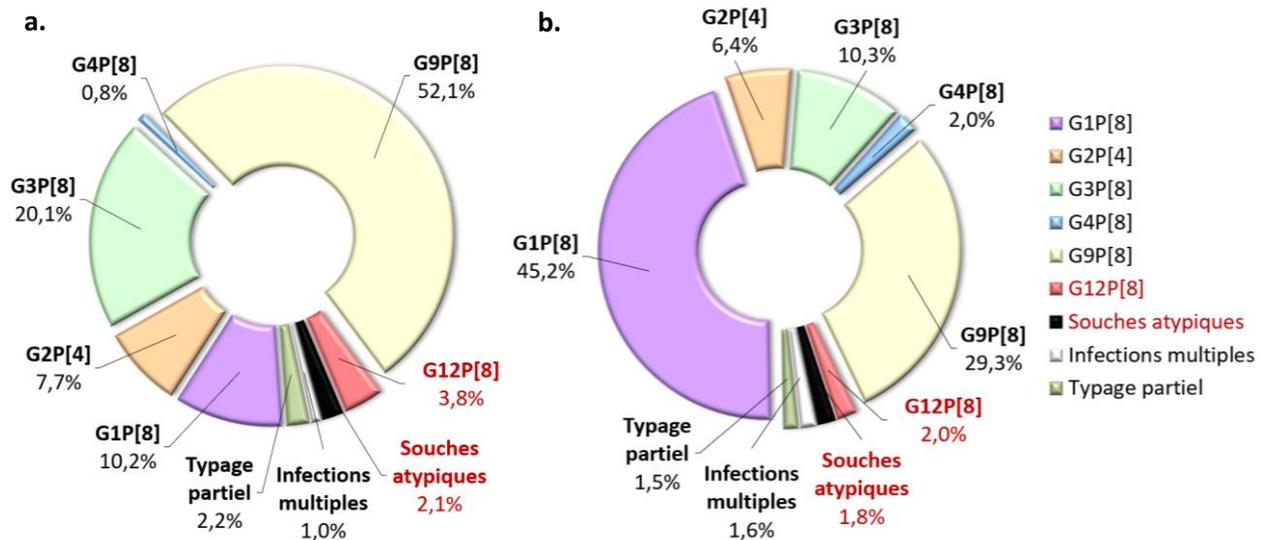


Figure 15 : Distribution des combinaisons de génotypes G et P des rotavirus détectés en France (a) de 2016 à 2021 (2723 souches) et (b) durant l'ensemble de la surveillance 2006-2021 (11688 souches)

3.3.3.3. Analyse de la répartition des génotypes G ou P (Figure 16)

L'analyse séparée des **génotypes G** montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France au cours de la période ont été des souches **G8** (22 souches) et **G6** (8 souches).

Les faits marquants de sur la période des saisons 2016-2017 à 2020-2021 sont :

- **une forte recirculation des rotavirus G9** avec une fréquence allant de 76,3% à 44,2% en décroissance lente de 2016 à 2021,
- **une poussée des rotavirus G3** avec un maximum à 52,9% au cours de la saison 2019-2020,
- **une percée des rotavirus G2** qui ont atteint avec 23,4% de fréquence son plus haut taux de circulation depuis deux décennies de surveillance.
- **une persistance de la circulation des rotavirus G12** avec un maximum de 19,9% au cours de la saison 2019-2020.

Les **génotypes P** sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** avec globalement 92,8% entre 2006-2021, alors que le génotype **P[4]** représente globalement 6,1% entre 2006-2021 et 23,8% pour la dernière saison. Ce résultat concernant le génotype P[4] est à considérer dans le suivi des effets de la vaccination même si les dernières données montrent que les variations sont essentiellement dues à une fluctuation naturelle saisonnière.

Entre 2006 et 2021, les génotypes atypiques en France étaient représentés par P[3], P[5], P[6], P[9] et P[14] ce qui représentait 127 (1,1%) souches. **La constance et l'hégémonie de la prévalence du génotype P[8] entre 2006 et 2021** est rassurante et doit être soulignée s'agissant de l'efficacité de la vaccination puisque les deux vaccins commercialisés possèdent cette valence antigénique dans leur composition.

Tableau 11 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France au cours des saisons 2016-2017, 2017-2018, 2018-2019, 2019-2020 et 2020-2021, et entre 2006 et 2021.

		Nombre de souches de rotavirus génotypées					
		2016-2017	2017-2018	2018-2019	2019-2020	2020-2021	2006-2021
		n=828	n=632	n=620	n=268	n=364	n=11798
Génotypes G a	G1	80 9,7%	103 16,3%	38 6,1%	20 7,7%	49 13,5%	5294 46,6%
	G2	70 8,5%	37 5,9%	18 2,9%	12 4,6%	85 23,4%	789 6,3%
	G3	25 3,0%	141 22,3%	212 34%	138 52,9%	54 14,8%	1307 11,1%
	G4	9 1,1%	16 2,5%	3 0,5%		1 0,3%	282 2,5%
	G6	5 0,6%		1 0,2%		2 0,5%	25 0,2%
	G8	1 0,1%	2 0,3%	9 1,4%	6 2,3%	4 1,1%	35 0,3%
	G9	632 76,3%	295 46,7%	322 51,7%	33 12,6%	161 44,2%	3641 30,9%
	G10						2 <0,1%
	G12	4 0,5%	27 4,3%	20 3,2%	52 19,9%	8 2,2%	249 2,1%
Infections mixtes (types G)	G1 + G2	1 0,1%					20 0,2%
	G1 + G3						22 0,2%
	G1 + G4		1 0,2%				10 0,1%
	G1 + G9	1 0,1%	6 0,9%				69 0,6%
	G2 + G3						1 <0,1%
	G2 + G4						1 <0,1%
	G2 + G9	1 0,1%					5 <0,1%
	G3 + G4						2 <0,1%
	G3 + G8		3 0,5%	4 0,6%	1 0,4%		1 <0,1%
	G3 + G9		1 0,2%				28 0,2%
	G3 + G12				6 2,3%		6 0,1%
	G4 + G9						9 0,1%
Génotypes P a	P[3]	2 0,2%					5 <0,1%
	P[4]	64 7,7%	39 6,2%	22 3,5%	13 4,9%	86 23,8%	826 6,1%
	P[5]						1 <0,1%
	P[6]	12 1,5%	7 1,1%	3		5 1,4%	78 0,7%
	P[8]	753 91,2%	585 92,7%	593 95,6%	246 93,5%	271 74,9%	10620 92,8%
	P[9]	21 2,5%					27 0,2%
	P[14]			2 0,3%	4 1,5%	1 0,3%	16 0,1%
Inf. mixtes (types P)	P[4] + P[8]	3 <0,1					27 0,3

^a Inclus les infections multiples

CNR virus des gastro-entérites

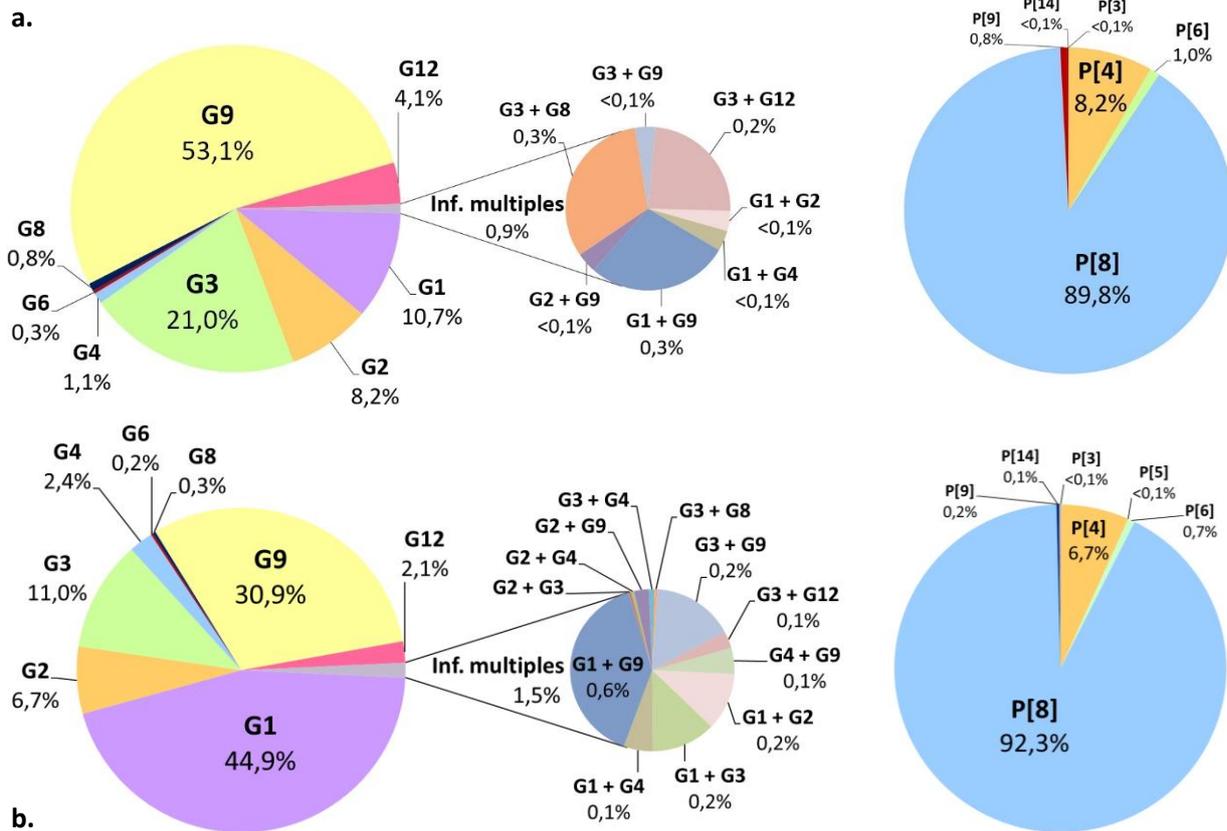


Figure 16. Distribution des génotypes G et P détectés en France (a) entre 2016 et 2021 (2723 souches) et (b) entre 2006 et 2021 (11798 souches)

3.3.3.4. Variations temporelles des combinaisons de génotypes G/P (Figure 17)

1/ Évolution des génotypes G/P « classiques »

L'évolution des génotypes G/P durant cette période de surveillance est marquée par de grandes variations saisonnières.

- **le génotype G1P[8]** : stable depuis plus de 10 ans, il a vu sa fréquence chuter avec la réémergence des G9P[8] puis des G3P[8] (entre 53,0% et 73,1% entre 2005 et 2015 ; entre 9,0% et 16,8% en 2015 et 2019 ; et seulement 7,5% en 2019-20). Ce phénomène a déjà été observé en 2004-05 mais il n'avait duré qu'une seule saison. Les résultats des génotypages des prochaines saisons seront à regarder de près avec soit une réémergence des G1P[8] au détriment des G9P[8], G3P[8] voire G12P[8], soit avec des accroissement de circulation de ces derniers.
- **le génotypes G2P[4]** évoluent de façon cyclique selon les saisons, oscillant entre 1,6% et 17,2% en fréquence. Au cours de la dernière saison 2020-21, on notera néanmoins un plus haut depuis 2006 avec 23,2% des souches génotypées.
- **le génotype G3P[8]** : jusqu'ici sa fréquence restait relativement faible avec quelques pics de détection supérieur à 20% au cours des saisons 2003-04 et 2011-12. Les saisons 2017-18 et 2018-19 indiquaient une probable réémergence de ce génotype qui s'est confirmée au cours de la saison 2019-20. Cette réémergence due à une souche particulière dite *equine-like* sera à surveiller au cours des prochains saisons même si la saison 2020-21 montre un net recul de sa circulation (14,3%).
- **le génotypes G4P[8]** circule à bas niveau depuis nombreuses saisons avec un maximum à 7,3%. Les souches G4P[8] ne sont plus détectées depuis 3 saisons.

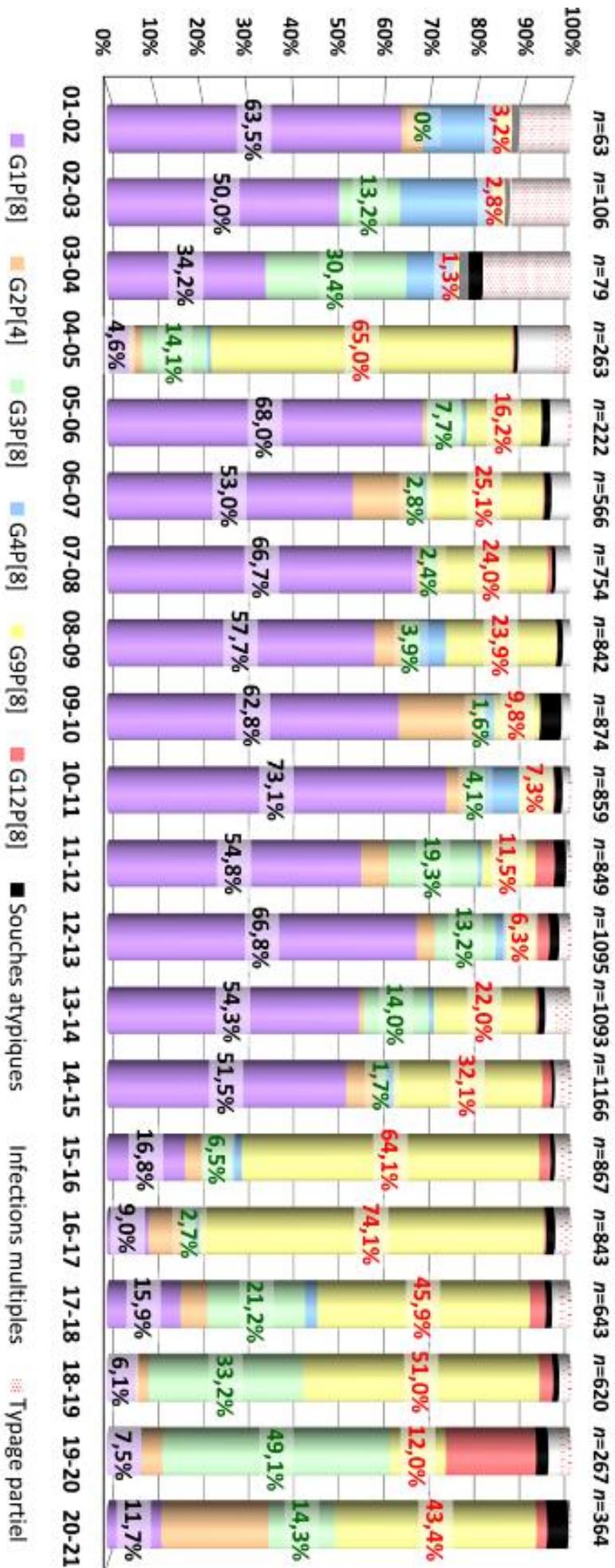


Figure 17. Évolution des combinaisons de génotypes G/P de rotavirus en France entre 2001 et 2021
(Noter que la période 2001 à 2006 est une étude limitée.)

- **le génotype G9P[8]** : après sa brutale émergence en 2004-05 (65,0%), sa fréquence diminuait régulièrement de 25,1% à 6,3% en 2012-2013. Sa réapparition à un taux élevé au cours des saisons 2013-14 et 2014-15 (21,1% puis 30,9%) puis sa réémergence au cours des saisons 2015-16 et 2016-17 (66,0% et 74,1%, respectivement) et son maintien à des fréquences élevées au cours des saisons 2017-18 et 2018-19 (47,0% et 49,1%) laissent des interrogations quant à sa circulation et son évolution d'autant que la forte prévalence des G9P[8] semble concerner plus particulièrement la France. Après une saison 2019-20 où sa fréquence a fortement chuté (12,0%), G9P[8] est de nouveau la souche la plus circulante (43,3%) au cours de la saison 2020-21.
- **le génotype G12P[8]** : son émergence récente (4,2% en 2011-12 et 3,0% en 2012-13) laissait penser qu'il deviendrait l'un des six génotypes importants en France. Après quelques saisons creuses (0,6% à 2,8% de détection), ce génotype a été détecté à une fréquence particulièrement élevée de 19,5% (52 souches) en 2019-20 confirmant la persistance et l'accélération de la circulation des rotavirus G12 en France. Cependant, cette percée a été de courte durée puisqu'il n'est détecté plus que dans 2,3% des cas. Cela reste néanmoins un génotype à surveiller.

2/ Évolution des génotypes ou combinaisons atypiques

- **les génotypes atypiques** sont des combinaisons incluant l'un des génotypes **G6, G8, G10, P[3], P[5], P[6], P[9] et P[14]**. **Sur l'ensemble de l'étude, elles représentent 137 souches (1,2%) dont 9 (2,4%) en 2020-21.** Parmi ces génotypes inhabituels, le génotype P[6] est le plus important (79 souches au total). Certaines de ces souches peuvent être d'origine animale, notamment bovine et caprine. Il s'agissait pour la dernière saison de souches G8P[8] (3) et G8P[14] (1). Ces souches G8P[8], détectées régulièrement depuis quelques saisons, sont à surveiller car elles pourraient émerger dans les prochaines saisons à l'instar des G9P[8] (2004-05) et G12P[8] (2011-12). Cette combinaison génotypique montre l'adaptation des souches G8 à l'homme.
- **les combinaisons atypiques**, par exemple G2 associé à P[8] ou G1, G3, G4, G9 ou G12 associé à P[4] représentent 1,0% des souches détectées de 2006 à 2021 et 2,7% des souches (10) au cours de la saison 2020-21.

3.3.3.5. Conclusions

La surveillance épidémiologique des souches de rotavirus a été effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale. En effet, la couverture vaccinale ne dépasse pas, en 2021, 5% tous vaccins confondus (c.-à-d. pour les vaccins Rotarix® (monovalent, GSK) et Rotateq® (pentavalent, Merck)).

La distribution saisonnière des épidémies de gastro-entérites à rotavirus s'étale en France principalement entre décembre et avril avec de faibles variations selon les saisons. En revanche, il semble exister une différence entre les centres parisiens, où les épidémies commenceraient plus tôt, dès décembre, suivi par la province de février à avril.

Les résultats significatifs concernant la répartition des génotypes des rotavirus depuis 2001 sont :

- la **large prédominance du génotype G1** à l'exception de la saison 2004-05 et depuis la saison 2015-16.
- **l'émergence de nouveaux génotypes** :
 - **le génotype G9** est devenu, depuis la saison 2004-2005, un génotype « classique » avec G1, G2, G3 et G4. Il a réémergé depuis la saison 2015-2016 et a circulé parfois avec une forte prévalence au cours des saisons suivantes.
 - **le génotype G12**, depuis la saison 2011-2012, a été globalement moins « brutale » que celle du génotype G9, représentant en France entre 2 et 4% des souches avec des différences significatives selon les centres. Ce génotype circule de manière régionale en France mais a connu une brève augmentation de sa circulation (19,9%) au cours de la saison 2019-20 avant de retomber (2,3%) au cours de la dernière saison.
 - **le génotype G3 equine-like** a émergé progressivement au cours des dernières saisons jusqu'à devenir prépondérant au cours de la saison 2019-20 avec une fréquence de 50,2% mais a moins circulé au cours de la dernière saison avec seulement 14,3% des souches détectées.

- la **variation cyclique des génotypes G2 et G3**.
- la disparition progressive des **génotypes G4**.
- la stabilité de la fréquence des souches inhabituelles (notamment le génotype P[6]) et l'existence, parmi celles-ci, de **souches d'origine animale** infectant les enfants. Depuis quelques saisons, des souches G8P[8] sont régulièrement détectées démontrant une adaptation à l'homme des souches G8 d'origine bovine (usuellement G8P[14]). Ces souches pourraient émerger dans les prochaines saisons.

Outre cette variabilité saisonnière des génotypes, il existe une **grande variabilité géographique**. Variabilité selon les centres en France et quelle que soit la saison. Cette variabilité est également retrouvée au niveau des pays européens.

3.3.4. Activité de surveillance de SARS-CoV-2 dans les selles

Fort de son expertise et son expérience dans la détection des virus dans les matrices fécales, le CNRvge a mis au point une technique de détection de coronavirus SARS-CoV-2 dans toutes les selles qui lui sont adressées (*le statut virologique pour SARS-CoV-2 n'étant pas connu*).

Un dossier de validation de méthode a été formalisée selon les recommandations de l'ANSM et le CNRvge participe à la détection de SARS-CoV-2 pour la qualification des selles de donneurs TMF dans les études thérapeutiques.

Sur un total de 1727 selles investiguées entre mars 2020 et décembre 2021, seules 39 (2,3%) selles étaient positives pour SARS-CoV-2 chez des patients dont la moyenne d'âge était de 49,7 ans [9 mois ; 86 ans] (médiane = 61 ans ; 18 femmes pour 21 hommes) : 17 immunodéprimés, 8 cas de diarrhées sporadiques, 3 cas d'épidémies groupés, 11 hospitalisés (réanimation, médecine interne, maladies infectieuses, dermatologie). (**Figure 18**)

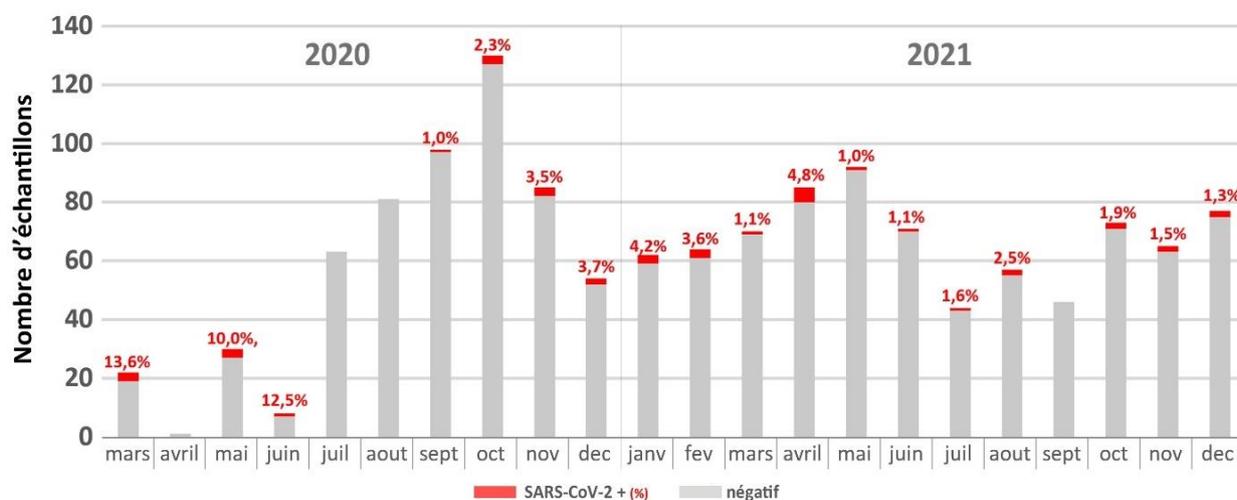


Figure 18 : Répartition saisonnière et statut des échantillons testés pour SARS-CoV-2 de 1727 selles entre mars 2020 et décembre 2021 (1 prélèvement/patient).

3.4. CONTRIBUTION À L'ALERTE

3.4.1. Contact hebdomadaire avec Sante Public France (SPF)

Un point hebdomadaire avec Santé Publique France est effectué le mardi de novembre à avril. Le réseau Sentinelles est associé à cette réunion téléphonique. Nos contacts à SPF sont Madame Nathalie JOURDAN-DA SILVA et Madame Nelly FOURNET. Nos interlocuteurs au réseau Sentinelles ont été tout d'abord Monsieur Thomas GORONFLOT, remplacé ensuite par Mme Lucie FOURNIER.

3.4.2. Procédures d'alerte de SPF et des autres partenaires

3.4.2.1. Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (ARS, laboratoire...)

- Informer le demandeur de l'existence de formulaires à remplir disponibles sur le site internet du CNR
- Déterminer l'identifiant de l'épidémie (code à garder tout au long de l'épidémie) de la manière suivante :

<p>code département – 2 premières lettres de la ville – mois – année (Exemple : épidémie à La Baule en mars 2006 = 44BA0306)</p>

- Entrer ces premières informations dans la base **Voozanoo** (<https://voozanoo.invs.sante.fr>).

3.4.2.2. Arrivée de prélèvements sans annonce préalable :

- Suivre la procédure décrite pour une épidémie annoncée par téléphone.
- Si les prélèvements ne sont pas accompagnés des formulaires du CNR, envoyés au prescripteur, par fax ou par mail, les formulaires pour avoir des renseignements sur l'épidémie.

Important : Penser à noter la date de réception des prélèvements sur les papiers joints (formulaire du CNR, prescription, feuille de laboratoire...)

3.4.3. Description de l'infrastructure informatique d'alerte

3.4.3.1. Transmission des données à SPF Voozanoo

Voozanoo est une base de données partagée entre SPF et le CNR, qui permet un échange en temps réel des informations épidémiologiques et moléculaires sur les épidémies de gastro+entérites annoncées et/ou traitées (voir paragraphe 4.4. et annexe 3).

- **Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo** : annonce d'une épidémie au CNR directement par un laboratoire, une ARS. Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à SPF, créer une nouvelle fiche pour entrer les premières informations.
- **Rendu des résultats à SPF** : les résultats préliminaires et définitifs sont entrés dans la base Voozanoo de SPF. Parallèlement, les résultats définitifs sont entrés dans le système informatique des laboratoires (SIL/SGL) du CHU Dijon Bourgogne (Corlabs® (Cortex) puis Glims® (Clynisis) à partir de fin 2022) pour archivage et édition des comptes-rendus ; ce système informatique est sécurisé.

3.4.3.2. Anonymisation des prélèvements

- **Enregistrement des prélèvements reçus au CNR** : repérer sur le serveur sécurisé le tableau de *synthèse* (S:\CNR Virus Enteriques\Tableaux de synthèse\Synthèse échantillons) le ou les numéros et identifier chacun des échantillons face au numéro en fin de liste (commencer par E...) puis les enregistrer sur le serveur du CHU (S:\CNR Virus Entériques\Tableaux de synthèse\Synthèse échantillons).
- **Classement des dossiers** : annexer les documents joints aux prélèvements dans une chemise identifiée par :
 - le nom de la ville qui a inspiré le numéro d'identifiant,
 - l'identifiant de l'épidémie (*code département / 2 premières lettres de la ville / mois / année*)
 - le numéro du carton suivi du numéro de la chemise (Exemple : 15.03 correspond au carton n°15, la chemise n°3 dans ce carton),
 - les **numéros des échantillons** correspondants (E.... à E...).

4. PUBLICATIONS EN LIEN AVEC LES ACTIVITÉS DU CNR (2017-2022)

4.1. LISTE DES PUBLICATIONS DU CNR

4.1.1. Publications nationales et ouvrages

1. **A de Rougemont**, A Garbarg-Chenon, **J Kaplon**. Chapitre 94 « Autres virus des gastro-entérites ». In *REMIC*, 7^e édition, 2022
2. A Garbarg-Chenon, **A de Rougemont**, **J Kaplon**. Chapitre 93 « Rotavirus ». In *REMIC*, 7^e édition, 2022
3. S Bonacorsi, S Le Hello, **A de Rougemont**. Chapitre 21 « Gastro-entérites ». In *REMIC*, 7^e édition, 2022.
4. A Huguenin, **A de Rougemont**, T Guillard. Approches syndromiques multiplex pour la prise en charge des diarrhées infectieuses. *La Lettre de l'Infectiologue*, 2021; XXXVI(6).
5. 1. V Avettand-Fenoel et **A de Rougemont**. Infections à entérovirus et autres virus entériques. In *Traité de Médecine*, (tome 3), 5^{ème} édition, 2020.
6. 1. P Loury, L Gross, F Dugast, L Favennec, F Dalle, **A de Rougemont**, B Polack, D Giraudeau, S Valot, D Costa, B Hubert. Épidémie de cryptosporidiose dans un collège de l'ouest de la France, novembre 2017. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 2019; 46.
7. **A de Rougemont**, A Garbarg-Chenon, **J Kaplon**. Chapitre 94 « Autres virus des gastro-entérites ». In *REMIC v6*, 2018.
8. A Garbarg-Chenon, **A de Rougemont**, **J Kaplon**. Chapitre 93 « Rotavirus ». In *REMIC v6*, 2018.
9. S Bonacorsi, S Le Hello, **A de Rougemont**. Chapitre 21 « Gastro-entérites ». In *REMIC v6*, 2018.
10. **A de Rougemont**. Chapitre 52 « Les gastro-entérites ». In *Traité de Virologie Médicale*, 2^e édition, 2018.
11. **A de Rougemont**. Chapitre 35 « Les virus des gastro-entérites : rotavirus et norovirus ». In *Traité de Virologie Médicale*, 2^e édition, 2018.
12. **A de Rougemont**, **G Belliot**. 90-55-0068-A - Norovirus. In *Encyclopédie Médico-Chirurgicale – Biologie Médicale*. Editions Elsevier-Masson.

4.1.2. Publications internationales

1. **M Estienney**, G Tarris, A Rouleau, S Ayouni, P Daval-Frérrot, LS Aho-Glélé, L Martin, W Boireau, J le Pendu, **A de Rougemont**, **G Belliot**. Attachment to the enterocytes is related to genetic drift for newly emerged GII.17 human norovirus. *Frontiers Microbiol*, 2022.
2. **M Estienney**, P Daval-Frérrot, LS Aho-Glélé, L Piroth, P Stabile, JY Gerbet, R Rouleau, **A de Rougemont**, **G Belliot**. Use of an hydrogen peroxide nebulizer for viral disinfection of emergency ambulance and medical waiting room. *Food Environ Viro*, 2022.
3. K Sdiri-Loulizi, A Khachou, S Ayouni, H Khelifi, D Elhani, **K Ambert-Balay**, A Rhim, J Kaplon, N Sakly, M Aouni, **A de Rougemont**. Dynamics of norovirus genotype change and early characterization of variants in Tunisian children with diarrhea over a 12-year period. *Archiv Virol*, 2022; 167(1):99-107.
4. C Hartard, H Fenaux, A Gentilhomme, JM Murray, E Akand, E Laugel, S Berger, A Maul, **A de Rougemont**, T Remen, M Bensenane, JP Bronowicki, C Gantzer, I Bertrand, E Schwoerer. Variability in molecular characteristics of Hepatitis E Virus quasi species could modify viral surface properties and transmission. *J Viral Hep*, 2021; 28(7):1078-1090.
5. M Chassaing, G Bastin, M Robin, D Majou, **G Belliot**, **A de Rougemont**, N Boudaud, C Gantzer*. Free chlorine and peroxynterite alter the capsid structure of human norovirus GII.4 and its capacity to bind histo-blood group antigens. *Front Microbiol*, 2021; 12:662764.
6. G Tarris, **A de Rougemont**, M Charkaoui, C Michiels, L Martin, **G Belliot***. Enteric viruses and Inflammatory Bowel Disease. *Viruses*, 2021; 13(1):104.
7. G Tarris, **A de Rougemont**, **MA Estienney**, M Charkaoui, T Mouillot, B Bonnotte, C Michiels, L Martin*, **G Belliot***. Specific Norovirus Interaction with Lewis x and Lewis a on Human Intestinal Inflammatory Mucosa during Refractory Inflammatory Bowel Disease. *mSphere*, 2021; 6(1):e01185-20.
8. O Kebe, MD Fernandez-Garcia, A Fall, H Dia, **M Bidalot**, **K Ambert-Balay**, K Ndiaye. Prevalence and Genetic Diversity of Aichi Virus 1 from Urban Wastewater in Senegal. *Intervirology*, 2021;64(2):96-101.
9. **J Kaplon***, **L Théry**, **M Bidalot**, **N Grangier**, J Frappier, LS Aho Glélé, **A de Rougemont**, **K Ambert-Balay**. Diagnostic performance of four commercial triplex immunochromatographic tests for rapid detection of Norovirus, Rotavirus and Adenovirus in human stool samples. *J Clin Microbiol*, 2020; 17;59(1):e01749-20.

10. M Chassaing, M Robin, J Loutreul, D Majou, **G Belliot, A de Rougemont**, N Boudaud*, C Gantzer*. The effect of proteolytic enzymes and pH on GII.4 norovirus, during both interactions and non-interactions with Histo-Blood Group Antigens. *Sci Rep*, 2020; 21;10(1):17926.
11. M Chassaing, N Boudaud*, **G Belliot**, D Majou, **A de Rougemont**, C Gantzer*. Interaction between norovirus and Histo-Blood Group Antigens: a key to understanding virus transmission and inactivation through treatments? *Food Microbiol*, 2020; 92:103594.
12. H Sokol*, C Landman, P Seksik, L Berard, M Montil, I Nion-Larmurier, A Bourrier, G Le Gall, V Lalande, **A de Rougemont**, J Kirchgessner, A Dagueneil, M Cachanado, A Rousseau, E Drouet, M Rosenzweig, H Hagege, X Dray, D Klatzman, P Marteau, L Beaugerie, T Simon. Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study. *Microbiome*, 2020;8(12).
13. A Fouillet, N Fournet, C Forgeot, G Jones, A Septfons, L Franconeri, **K Ambert-Balay**, J Schmidt, P Guérin, H de Valk, C Caserio-Schönemann. Large concomitant outbreaks of acute gastroenteritis emergency visits in adults and food-borne events suspected to be linked to raw shellfish, France, December 2019 to January 2020. *Euro Surveill*. 2020;25(7):2000060.
14. P Gaspard, A Mosnier, L Simon, O Ali-Brandmeyer, C Rabaud, S Larocca, B Heck, S Aho-Glélé, **P Pothier, K Ambert-Balay**. Gastroenteritis and respiratory infection outbreaks in French nursing homes from 2007 to 2018: Morbidity and all-cause lethality according to the individual characteristics of residents. *PLoS One*, 2019 Sep 24;14(9):e0222321
15. M Robin, M Chassaing, J Loutreul, **A de Rougemont, G Belliot**, D Majou, C Gantzer, N Boudaud. Effect of natural ageing and heat treatments on GII.4 norovirus binding to Histo-Blood Group Antigens. *Sci Rep*, 2019;9:15312.
16. G Tarris, **G Belliot**, P Callier, F Huet, L Martin, **A de Rougemont***. Pathology of rotavirus-driven multiple organ failure in a 16-mo boy. *Pediatr Infect Dis J*, 2019.
17. M Hasso-Agopsowicz, CN Ladva, B Lopman, C Sanderson, AL Cohen, JE Tate, X Riveros, AM Henao-Restrepo, A Clark; **Global Rotavirus Surveillance Network and Rotavirus Age Study Collaborators**. Global Review of the Age Distribution of Rotavirus Disease in Children Aged <5 Years Before the Introduction of Rotavirus Vaccination. *Clin Infect Dis*, 2019;69(6):1071-1078.
18. E Emmott*†, **A de Rougemont†**, J Haas, I Goodfellow*. Polyprotein processing and intermolecular interactions within the viral replication complex spatially and temporally control norovirus protease activity. *J Biol Chem*, 2019; 294(11):4259-4271.
19. **J Kaplon, N Grangier**, S Pillet, A Minoui-Tran, A Vabret, N Wilhelm, N Prieur, M Lazrek, S Alain, Y Mekki, V Foulongne, J Guinard, V Avettand-Fenoel, A Schnuriger, A Beby-Defaux, G Lagathu, **P Pothier, A de Rougemont***. Predominance of G9P[8] Rotavirus Strains throughout France, 2014-2017. *Clin Microbiol Infect*, 2018; 24(6):660.e1-660.e4
20. L Thorne*, A Nalwoga, A Mentzer, **A de Rougemont**, M Hosmillo, E Webb, A Elliott, I Goodfellow. The first longitudinal seroepidemiological study of human noroviruses from sub-Saharan Africa reveals high diverse seroprevalence associated with host susceptibility factors. *J Infect Dis*, 2018; 218(5):716-725
21. J van Beek, M de Graaf, H Al-Hello, DJ Allen, **K Ambert-Balay**, N Botteldoorn, M Brytting, J Buesa, M Cabrerizo, M Chan, F Cloak, I Di Bartolo, S Guix, J Hewitt, N Iritani, M Jin, R Johne, I Lederer, J Mans, V Martella, L Maunula, G McAllister, S Niendorf, HG Niesters, AT Podkolzin, M Poljsak-Prijatelj, LD Rasmussen, G Reuter, G Tuite, A Kroneman, H Vennema, Koopmans MPG. Molecular surveillance of norovirus, 2005-16: an epidemiological analysis of data collected from the NoroNet network. *Lancet Infect Dis*. 2018 May; 18(5): 545-553.
22. F Pourasgari, **J Kaplon**, A Sanchooli, **C Fremy**, S Karimi-Naghiani, V Otarod, **K Ambert-Balay**, N Mojangani, **P Pothier**. Molecular prevalence of bovine noroviruses and neboviruses in newborn calves in Iran. *Arch Virol*. 2018 May; 163(5): 1271-1277.
23. V Tesson, **G Belliot, M Estienney**, S Wurtzer, P Renault. Vomiting symptom of acute gastroenteritis estimated from epidemiological data can help predict river contamination by human pathogenic enteric viruses. *Environ Int*. 2019 Feb; 123: 114-123.
24. K Farkas*, DM Cooper, JE McDonald, SK Malham, **A de Rougemont**, DL Jones. Seasonal and spatial dynamics of enteric viruses in wastewater and in riverine and estuarine receiving waters. *Sci Total Environ*, 2018 Sep 1;634:1174-1183.
25. C Ibrahim, S Hammami, N Chérif, S Mejri, **P Pothier**, A Hassen. Detection of Sapoviruses in two biological lines of Tunisian hospital wastewater treatment. *Int J Environ Health Res*. 2018 Nov 26: 1-14.
26. C Ibrahim, A Hassen, **P Pothier**, S Mejri, S Hammami. Molecular detection and genotypic characterization of enteric adenoviruses in a hospital wastewater. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018 Apr; 25(11): 10977-10987.

27. V Tesson, **A de Rougemont**, L Capowiez, P Renault. Modelling the removal and reversible immobilization of murine noroviruses in a phaeozem under various contamination and rinsing conditions. *Eur J Soil Sci*, 2018 November; 69, 1068–1077.
28. M Rivière, N Baroux, V Bousquet, **K Ambert-Balay**, P Beaudeau, N Jourdan-Da Silva, D Van Cauteren, F Bounoure, F Cahuzac, T Blanchon, T Prazuck, C Turbelin, T Hanslik. Secular trends in incidence of acute gastroenteritis in general practice, France, 1991 to 2015. *Euro Surveill*, 2017, 22.
29. **J Kaplon**, **N Grangier**, S Pillet, A Minoui-Tran, A Vabret, N Wilhelm, N Prieur, M Lazrek, S Alain, Y Mekki, V Foulongne, J Guinard, V Avettand-Fenoel, A Schnuriger, A Beby-Defaux, G Lagathu, **P Pothier**, **A de Rougemont**. Predominance of G9P[8] rotavirus strains throughout France, 2014-2017. *Clin Microbiol Infect*, 2017.
30. A Lagare, A Moumouni, **J Kaplon**, C Langendorf, **P Pothier**, RF Grais, B Issaka, AL Page. Diagnostic accuracy of VIKIA® Rota-Adeno and Premier? Rotaclone® tests for the detection of rotavirus in Niger. *BMC Res Notes*, 2017, 10, 505.
31. P Gaspard, **P Pothier**, C Roth, S Laroocca, B Heck, **K Ambert-Balay**. Viral prevalence and laboratory investigations of gastroenteritis in institutions for dependent people., *Med Mal Infect*, 2017, 47, 546-553.
32. S Watier-Grillot, M Boni, C Tong, PA Renoult, A Fournier, L Joie, A Mérens, A Chesnay, S Perelle, A Fraisse, **K Ambert-Balay**, D Chal, S Larréché, R Michel, V Pommier de Santi. Challenging Investigation of a Norovirus Foodborne Disease Outbreak During a Military Deployment in Central African Republic. *Food Environ Virol*, 2017, 9, 498-501.
33. **M Bidalot**, **L Théry**, **J Kaplon**, **A de Rougemont**, **K Ambert-Balay**. Emergence of new recombinant noroviruses GII.p16-GII.4 and GII.p16-GII.2, France, winter 2016 to 2017. *Euro Surveill*, 2017, 22.
34. S Sykora, MR Corroero, N Moridi, **G Belliot**, P Pothier, Y Dudal, PF Corvini, P Shahgaldian. A Biocatalytic Nanomaterial for the Label-Free Detection of Virus-Like Particles. *Chembiochem*, 2017, 18, 996-1000
35. EN Aybeke, **G Belliot**, S Lemaire-Ewing, **M Estienney**, Y Lacroute, **P Pothier**, E Bourillot, E Lesniewska. HS-AFM and SERS Analysis of Murine Norovirus Infection: Involvement of the Lipid Rafts. *Small*, 2017, 13.
36. MA Sanchez, SP Corcostégui, CA De Broucker, O Cabre, S Watier-Grillot, S Perelle, **K Ambert-Balay**, V Pommier de Santi. Norovirus GII.17 Outbreak Linked to an Infected Post-Symptomatic Food Worker in a French Military Unit Located in France. *Food Environ Virol*, 2017, 9, 234-237
37. C Ibrahim, S Hammami, S Mejri, I Mehri, **P Pothier**, A Hassen. Detection of Aichi virus genotype B in two lines of wastewater treatment processes. *Microb Pathog*, 2017, 109, 305-312.
38. K Farkas, DE Peters, JE McDonald, **A de Rougemont**, SK Malham, DL Jones. Evaluation of Two Triplex One-Step qRT-PCR Assays for the Quantification of Human Enteric Viruses in Environmental Samples. *Food Environ Virol*, 2017, 9, 342-349

4.1.3. Communications nationales

1. **J Kaplon**, **L Théry**, **M Bidalot**, **N Grangier**, J Frappier, LS Aho Glélé, **A de Rougemont**, **K Ambert-Balay**. Performances diagnostiques des tests immunochromatographiques triplex Norovirus/Rotavirus/Adénovirus. 39ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, décembre 2019.
2. **A de Rougemont**. Gastro-entérites virales - Stratégie diagnostic des diarrhées. Les infections gastro-intestinales, journée DPC du Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière (Col.BVH), Paris, 21 juin 2019
3. V Bellet, H Marini, L Guet, C Amant, S Caltot, K Kerleau, V Lemée, I Roland, **A de Rougemont**, **K Balay**, V Merle. Gestion d'une épidémie de 151 cas de gastro-entérite aiguë dans un établissement psychiatrique. 28ème Congrès de la Société Française d'Hygiène Hospitalière, Nice, juin 2017.

4.1.4. Communications internationales

1. **G Belliot**, **M Estienney**, G Tarris, P Daval, S Ayouni, L Martin, J Le Pendu, **A de Rougemont**. Histo-Blood Group Antigen binding profile of GII.17 noroviruses. 7th International Calicivirus Conference, Sydney (Australia), October 2019.
2. G Tarris, **G Belliot**, P Callier, L Martin, **A de Rougemont**. Pathology of rotavirus-driven multi-organ failure in infants. 31st European Congress of Pathology, Nice (France), September 2019.
3. **D Agnello**, D Denimal, A Lavaux, C Pitoiset, **P Pothier**, **A de Rougemont**. Rotavirus (RV)-specific IgG-positive memory B cells induced by intra-rectal immunization with 2/6-virus-like particles generate gut-homing IgA-secreting cells upon RV infection. 6th European Expert Meeting on Rotavirus Vaccination / 8th European Rotavirus Biology Meeting, Riga (Latvia), April 2019.

4. **D Agnello***, D Denimal, A Lavaux, C Pitoiset, **P Pothier**, **A de Rougemont**. Asymmetric recirculation of $\alpha 4\beta 7$ -expressing memory B cells throughout the gut-associated lymphoid tissues. 13th International dsRNA virus symposium, Houffalize (Belgium), September 2018.

4.1.5. Communications sur invitation

1. **A de Rougemont**. Les gastro-entérites virales. Webinars Remic's. Société Française de Microbiologie (SFM), Paris, 2 décembre 2021.
2. **G Belliot**. Interactions virus-hôte. Exemple des relations chez l'homme entre le norovirus et les antigènes de groupe sanguin. I2BC, CNRS, Gif sur Yvette. 9 mai 2019.
3. **A de Rougemont**. Gastro-entérites virales - Stratégie diagnostic des diarrhées. Les infections gastro-intestinales, journée DPC du Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière (Col.BVH), Paris, 21 juin 2019.
4. **A de Rougemont**. Les gastro-entérites du nourrisson, Journée de prévention du risque infectieux chez le nouveau-né, Centre d'appui pour la prévention des infections associées aux soins, CPIAS ARA, Lyon, 18 octobre 2018.
5. **A de Rougemont**. Les GEA virales, Gestion des cas groupés de gastro-entérites Aiguës (GEA), CoCLINNOR, Rouen, 15 novembre 2018.
6. **G Belliot**. Relation entre norovirus et antigène de groupe sanguin Interaction hôte-pathogène. LMGE ? CNRS6023, Université d'Auvergne, 6 avril 2018.

4.2. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux, industriels

4.2.1. Coopérations structurelles dans le cadre de nos activités de surveillance et d'alerte

IFREMER - Centre de Nantes (Dr Françoise LE GUYADER) : laboratoire de référence pour les virus entériques dans les **produits de la mer**. Nous collaborons étroitement et en temps réel pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est un produit de la mer (alerte, investigation, comparaison des souches etc...).

ANSES – Unité de virologie des Aliments et de l'eau, Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons Alfort (Dr Sylvie PERELLE) : laboratoire de référence pour **l'eau et les aliments**. Nous collaborons avec ce laboratoire pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est alimentaire ou hydrique (alerte, investigation, comparaison des souches...).

ANSES - Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, 40, Rue Lionnois F-54000 NANCY (Dr Benoît GASSILLOU).

4.2.2. Coopérations dans le cadre de projets de recherche

4.2.2.1. Coopérations universitaires

Depuis 2016, l'équipe de recherche du CNRVge est intégrée à l'équipe « **Procédés Microbiologiques et Biotechnologiques** » à **L'Unité Mixte de Recherche « Procédés Alimentaires et Microbiologiques » (UMR PAM)**, placée sous la gestion conjointe d'AgroSup Dijon et de l'Université de Bourgogne. Fondée le 1^{er} janvier 2012, elle est constituée de 3 équipes : **PMB, PCAV (« Physico-Chimie de l'Aliment et du Vin »)**, et **VALMIS (« Vin-ALiment-Microbiologie-Stress »)**. Elle est installée sur 4 sites : AgroSup Dijon, l'IUVV, l'INRA et l'UFR des Sciences de Santé. L'UMR PAM est un acteur majeur du progrès scientifique et technologique dans le domaine des aliments et du vin. Les travaux conduits par l'équipe PMB s'affichent dans le cadre « santé et alimentation » et sont tournés vers le monde de l'industrie. Ils ont pour finalité l'amélioration de la qualité de la nutrition en élaborant de nouveaux produits ou procédés à partir de microorganismes, et l'évaluation des risques que posent les virus dans l'alimentation (sécurité alimentaire). À cette fin, l'activité de recherche est centrée sur la maîtrise de l'activité et de la fonctionnalité de microorganismes soumis à différents types de perturbations environnementales d'amplitude et de cinétique variés. Nos travaux sont surtout axés sur les norovirus et leur éradication suivant les conclusions du *Codex alimentarium* de 2012.

Notre équipe participe à l'étude du pouvoir pathogène des virus persistants dans l'environnement et les facteurs de stress qui y sont associés et sur l'optimisation de leur destruction au cours de traitements

technologiques tout aussi bien applicable dans les secteurs de l'agro-alimentaire, de l'hygiène et de la clinique. Les travaux mettent en œuvre des stratégies et des outils performants et adaptés à cette approche dont des outils moléculaires de détection, de caractérisation et de quantification des virus dans l'environnement et différents types de matrices ; la production et la purification d'antigène et de particule de synthèse en système bactérien et en baculovirus ; ou encore la génétique inverse, la mutagenèse et l'expression de gènes.

4.2.2.2. Projets divers

Projet européen OXYVIR et OXYVIR 2

Le CNRVge participe depuis de 2017 au projet OXYVIR puis en 2021 au projet OXYVIR 2 subventionnés par le Fond Européen pour les Affaires Maritimes et la Pêche (FEAMP) et en lien avec la Direction générale de l'alimentation (DGAL).

Ces projet OXYVIR portent sur la survie des norovirus et l'étude de leur pouvoir infectieux en conchyliculture et en particulier en ostréiculture. Dans le cadre de ce projet, le CNRVge apporte son expertise scientifique et technologique sur les norovirus et l'utilisation de particules virales de synthèse (VLP). OXYVIR2 reposent en particulier sur la maîtrise des techniques complexes de culture des norovirus sur larves de poisson zèbre (*Danio rerio*) que nous développons depuis 2020 et nous sommes en cours d'acquisition des techniques de culture sur entéroïdes. L'objectif est de pouvoir discerner le risque infectieux réel chez les huitres norovirus-positives en PCR, et ainsi éviter la destruction inutile des productions (actuellement 8.000 tonnes par an).

Les membres du consortium sont les suivants : ACTALIA (Saint Lô, association Loi 1901), le Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'Environnement (UMR 7564, Université de Lorraine, Nancy), le Laboratoire de Chimie et Physique des milieux complexes (Université de Lorraine, Metz), Spéciales GILLARDEAU (conchyliculteur) et le Pôle de compétitivité AQUIMER (Boulogne sur mer).

Projets régionaux

Divers projets ont été lancés :

- en lien avec AgroSup Dijon : le projet ViroLux portant sur les effets de certaines ondes lumineuses sur la destruction virale dans différentes matrices ; le projet VeggyVir portant sur l'effet d'une technologie de décontamination sur une matrice alimentaire sur la destruction des virus entériques en collaboration avec l'université de Bangor (UK).
- en lien avec AgroSup et la Banque Publique d'Investissement (BPI France) : le projet Viralim portant sur la sécurité alimentaire avec la société internationale SAFE (Auxerre) spécialisée dans l'alimentation des animaux de laboratoire.
- en lien avec le laboratoire LMC de l'UFR Sciences de Santé de l'Université de Bourgogne : le projet Silinov portant sur la conception de nanoparticules de silice dérivées de VLP de norovirus et utilisable comme vecteur permettant d'encapsuler une molécule d'intérêt.

4.2.2.3. Collaborations avec l'INRA

Depuis plusieurs années, le CNRVge collabore avec les équipes de l'INRA :

- du Pr. Pierre RENAULT à Avignon sur le devenir des virus des gastro-entérites dans l'environnement et de déterminer comment la transmission alimentaire des gastroentérites virales aiguës est façonnée par les pratiques alimentaires, d'hygiène et de santé et par le devenir du virus dans l'environnement. Ce projet, en partenariat avec un consortium de 12 laboratoires, vise à améliorer l'évaluation quantitative des risques microbiens (QMRA) liés aux infections virales dues à la consommation de légumes-feuilles crus et à l'origine de gastroentérites aiguës, en intégrant toutes les étapes de la production à la consommation des légumes-feuilles.
- du Pr. Harry SOKOL (APHP) à Jouy-en-Josas (équipe MICALIS) sur la transplantation de microbiote fécal (TMF) et le microbiote fécal dans le cadre des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), en particuliers la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique. Cette collaboration porte actuellement sur deux études TMF (REBALANCE et MIRACLE) portées par l'équipe INRA ainsi que sur l'étude Microbiote portée par l'UMR PAM de Dijon.

4.2.3. Conclusion sur nos coopérations

Nos activités de surveillance nous ont conduites à collaborer régulièrement avec l'IFREMER et l'ANSES. Nos participations à des contrats de recherche, ANR ou autres nous ont permis de collaborer avec d'autres laboratoires avec lesquels nous avons conservé des contacts.

Parallèlement à ce réseau national, nous avons recherché à mieux insérer notre CNR dans le contexte scientifique local travaillant dans les domaines de la microbiologie alimentaire ou de l'environnement.

4.3. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

- **Le réseau européen NoroNet** regroupe les laboratoires des réseaux européens constitués à partir de financements de la Communauté Européenne. Ce réseau mondial regroupe plusieurs laboratoires européens, d'Amérique du Nord et du Sud, d'Asie et d'Océanie. Il a pour mission la surveillance et la caractérisation des virus des gastro-entérites, essentiellement les norovirus. Ils nous offrent l'accès et le partage d'une base de données ; la possibilité d'une comparaison des souches de norovirus et d'une surveillance prospective des nouveaux variants. Ils sont des outils majeurs de la caractérisation des souches de norovirus détectées. Le CNRVge participe à ce réseau depuis sa création. Nos partenaires français sont SPF et l'IFREMER.

Composition du réseau NoroNet : Europe (Pays-Bas, Grande-Bretagne, Allemagne, Hongrie, Suède et France) ; Amérique (USA, Canada, Nicaragua Venezuela, Chili) ; Asie Israël, Japon, Chine, Inde, Malaisie) ; Océanie (Australie et Nouvelle-Zélande).

- **Le réseau « EuroRotanet »** a pour mission la surveillance et la caractérisation des rotavirus responsables des gastro-entérites chez les enfants. Le CNRVge a participé à la création de ce réseau européen. Ce réseau nous permet une actualisation de nos techniques de caractérisation des génotypes de rotavirus et un partage des données virologiques et épidémiologiques. Outre notre participation aux recherches épidémiologiques dans un cadre européen, l'intégration de notre laboratoire dans ces réseaux nous donne l'accès aux **contrôles de qualité externes (rotavirus)**.

*Composition des réseaux européens : Ces réseaux regroupent 14 laboratoires de 12 pays européens : **Pays Bas**: RIVM, Bilthoven (Dr M. Koopmans) ; **Finlande**: Helsinki University Central Hospital (Dr von Bonsdorff KH) ; **Danemark**: Virus Diagnostics Laboratory, Copenhagen (Dr Böttiger) ; **Suède**: Karolinska Institute, Slona (Dr Svensson L) ; **Grande Bretagne**: Central Public Health Laboratory, London (Dr Brown D) ; **Allemagne**: Robert Koch- Institut, Berlin (Dr Schreier E) ; **Espagne**: Institut de Salud Carlos III, Madrid (Dr Sanchez A), Universitat de Barcelona (Dr Bosch A) et Universitat de Valencia (Dr Buesa J) ; **Italie**: Istituto Superiore di Sanità, Rome (Dr Ruggeri FM), **Slovénie** : Medical Faculty of Ljubljana (Dr. Poljsak-Prijatelj M); **Hongrie** : County Institute of State Public Health Service (Dr Szucs G) ; **France** : IFREMER (Dr F. Le Guyader S), CNR hépatites A (APHP Paul Brousse, Pr AM. Roque-Afonso) et E (CHU Toulouse, Pr J. Izopet), CNR virus des gastro-entérites (CHU Dijon, Pr A. de Rougemont).*