



Rapport d'activité 2012

Centre National de Référence des virus entériques (entérovirus exclus)

Bilan d'activité 2012 et programme 2013 - 2014

Responsable : Professeur Pierre POTHIER

Laboratoire de Virologie

CHU de Dijon

Rapport d'activité 2012

Centre National de Référence des virus entériques (entérovirus exclus)

Laboratoire de Virologie du CHU de Dijon

Site web: www.cnr-ve.org

Bilan d'activité 2012 et programme 2013 - 2014

Responsable : Professeur Pierre POTHIER

Responsable-adjoint Docteur Katia AMBERT-BALAY

Collaborateurs (2011 - 2016):

Docteur Christelle AUVRAY

Docteur Gaël BELLIOT

Docteur Davide AGNELLO

Docteur Alexis DE ROUGEMONT

SOMMAIRE

1.	INT	RODUCTION	1
1.1.	RAF	PPEL DES MISSIONS DU CNR DES VIRUS ENTERIQUES	1
1.2.	ETA	T DE LA QUESTION OBJECTIS DU CNR	1
1.3.	RES	SUME DES ACTIVITES DE 2012 ET OBJECTIFS 2013 - 2014	3
1.4.	L'E	QUIPE ET ORGANISATION DU CNR	3
1.4	.1.	Fiche d'identité du CNR	3
1.4 1.4		L'équipe Organisation du CNR	
1.4		Organigramme du CNR et du laboratoire de virologie (2012)	
1.5.	DEN	MARCHE QUALITE DU CNR	6
1.5	.1.	Contrôle de qualité interne	6
1.5 1.5		Contrôle de qualité externe européen	
1.5		Accréditation	
1.6.	DES	SCRIPTION DES LOCAUX ET EQUIPEMENTS	8
1.6	.1.	Les locaux	8
1.6	.2.	Les équipements	8
2.	AC	TIVITES D'EXPERTISE	9
2.1.	CAF	PACITES TECHNIQUES DU CNR	9
	.1.	Liste des techniques de référence disponibles	9
2.1	.2. .1.2.1	Collection de souches, d'antigènes ou d'anticorps de référence	9
	.1.2.2	•	
2	.1.2.3	3. Conditions de mise à disposition des souches	.11
	ACT	TVITES D'EXPERTISE DU CNR (ANNEE 2011)	11
2.2 2.2	.1.	Evaluation des trousses de diagnostic de norovirus	.11
2.2	.2. .3.	Investigations virologiques de cas sporadiques.	.12
	.2.3.1	Lentérocolites ulcéro-nécrosantes	.12
2.2	2.3.2 1	2. Surveillance de patients immunodéprimés	
2.2		Principales souches virales caractérisées lors de ces épidémies	
2.2	.6.	Conclusions sur les virus entériques caractérisés dans les épidémies	.15
3.	AC	TIVITES DE SURVEILLANCE	17
3.1.	EVC	DLUTION ET CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS A ROTAVIUS	17
3.1	.1.	Réseau de partenaires et répartition géographique	.17
3.1		Principaux résultats	
		Variations temporo-spatiales des infections à rotavirus	
		Conclusion	
3.2.	DET	ECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES	
3.2		Réseau de partenaires et répartition géographique	
3.2 3.2		Provenance des échantillons Caractéristiques des épidémies (2007-2012)	
	.2.3.1	Nature et évolution des épidémies	.25
	.2.3.2	,	
	.2.3.3		
3.3. 3.3		NTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX	
5.5	• • •	NOOCUUA III.G. HALINGU * 1 DVL-1901 *, * NOI ONG! * Et * LUI ONOI GIE! *	.50

	3.2.	Collaborations « Egypte - Tunisie - Algérie - Maroc » (2006-2012)	
	3.3. 3.4.	Collaborations « Iran – Niger – Burkina Faso » (2010-2012) Collaboration avec le Réseau International des Instituts Pasteur	
	3.5.	Autres contributions de notre laboratoire dans la surveillance (2012)	
3.4.	СО	NCLUSION DES ACTIVITES D'EXPERTISE	38
4.	AL	ERTE	39
4.1.		NTACT HEBDOMADAIRE AVEC L'INVS	
4.2.		OCEDURES D'ALERTE DE L'INVS ET DES AUTRES PARTENAIRES	
	2.1.		
	3.1.1.		
	3.1.2.	·	
4.3. 4.	DE: 3.1.	SCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE Transmission des données a l'InVS	
	1.1. E	nregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo	40
	1.2. R 3.2.	endu des résultats à l'InVS	
4.4.	-	OCEDURES DE TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS DES CAS GROUPE DE GEA	
	4.1.	Procédures de traitement d'une épidémie	41
4.	4.2.	Protocoles d'envoi d'échantillons de selles et formulaires	47
5.	AC	TIVITE D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	. 52
5.1.	PA	RTICIPATION AUX COMMISSIONS SPECIALISEES ET ACTIVITES D'EXPERTISE	52
5.2.	AC	TIVITES DE CONSEIL	52
5.3.	EN	CADREMENT DE STAGIAIRES	52
6.	TR	AVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR	. 53
6.1.	RE	CHERCHES APPLIQUEES	53
6.2.	RE	CHERCHES EPIDEMIOLOGIQUES	53
6.	2.1.	Epidémiologie moléculaire des autres virus entériques	53
	2.2. 2.3.	Diarrhées chroniques chez les immunodéprimés	
6.3.		ERACTIONS NOROVIRUS-RECEPTEUR	
		CANISMES DE LA REPONSE IMMUNE AU NIVEAU DIGESTIF	
7.		BLICATIONS ET COMMUNICATIONS	
7.1.		BLICATIONS NATIONALES	
7.2.		BLICATIONS INTERNATIONALES (2012)	
7.3.		MMUNICATIONS NATIONALES	
7.4.		MMUNICATIONS INTERNATIONALES	
7.5.	CO	NFERENCES SUR INVITATIONS	56
7.6.	CO	NTRATS DE RECHERCHE EN COURS ET LIES AUX ACTIVITES DU CNR	57
8.	PR	OGRAMME D'ACTIVITE 2012 ET 2013	. 58
8.1.	EN	TERMES D'EXPERTISE	58
	1.1. 1.2.	Participation aux réseaux européens et mondiaux (FBVE et NoroNet, EuroRotaNet)	
	1.2. 1.3.	Mise à disposition des protocoles de diagnostic et contrôles externes Développement et diffusion des méthodes de diagnostic des norovirus	
8.	1.4.	Diarrhées chroniques chez les transplantés	
8.2.		NTRIBUTION A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE	59
	2.1. 2.2.	Partenariat et collaborations (InVS, IFREMER, ANSES, CNR hépatites A et E):	59
	2.3.	Investigations des cas groupés de gastroentérites	

8.3. C	CONTRIBUTION A L'ALERTE DE L'INVS					
8.4. A	CTIVITE D'INFORMATION, FORMATION, CONSEIL	60				
	Site web					
8.4.2.	Activité de conseil	60				
	Activité de formation					
8.4.4.	Collogues et réunions scientifiques	60				

1. INTRODUCTION

1.1. RAPPEL DES MISSIONS DU CNR DES VIRUS ENTERIQUES

Les missions du CNR des virus entériques (à l'exclusion des entérovirus) ont été définies dans le cahier des charges spécifiques du CNR paru en janvier 2011 :

Apporter une expertise microbiologique:

- Disposer d'une expertise en biologie moléculaire pour l'identification et la caractérisation des différentes souches de virus entériques.
- Participer à la standardisation des méthodes diagnostiques et de typage par l'implication dans un réseau d'expertise et de surveillance internationale,
- Contribuer à la surveillance virologique des gastro-entérites notamment hivernales (surveillance des souches de rotavirus, détection de nouvelles souches virales, notamment calicivirus).

Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'institut de veille sanitaire :

- En participant à l'investigation de cas groupés par l'identification et la comparaison des souches isolées chez l'homme et dans le véhicule suspecté à l'origine des cas groupés,
- En collaborant avec les réseaux nationaux de surveillance des virus entériques en agroalimentaire (IFREMER, ANSES, etc.),
- En collaborant avec le centre national de référence des virus des hépatites à transmission entérique (hépatites A et E);

Contribuer à l'alerte :

• En signalant à l'institut de veille sanitaire tout événement inhabituel : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles) etc.

1.2. ETAT DE LA QUESTION OBJECTIS DU CNR

En France, comme dans les autres pays industrialisés, les gastro-entérites se présentent sous plusieurs aspects posant des problèmes de santé publique totalement différents.

- 1. Les gastro-entérites infantiles, principalement à rotavirus, sont la cause d'une importante morbidité infantile ayant des répercussions économiques. Un vaccin protégeant contre les infections à rotavirus est disponible. Les questions relatives à sa recommandation ou non sont toujours d'actualité. Les rotavirus ont une très grande diversité génétique et ont montré une fluctuation géographique et temporelle imprévisible. La circulation de souches d'origine animale ou des combinaisons de génotypes inhabituels est faible en France et en Europe. Cependant, le risque d'émergence de souches nouvelles est réel. Cette émergence poserait un problème d'efficacité de la vaccination si ces génotypes ne présentaient pas de communauté antigénique avec les souches incluses dans le vaccin.
 - → Le CNR des virus entériques participe activement depuis 2007 à un réseau de surveillance épidémiologique européen et anime un réseau national de surveillance moléculaire des rotavirus qui lui permet d'estimer l'importance de ces souches inhabituelles et d'anticiper leur émergence.
 - → Le CNR participe au groupe de travail sur la vaccination anti-rotavirus mis en place par le Haut Conseil de Santé Publique.

- → Le CNR des virus entériques apporte son expertise aux fabricants de réactifs et laboratoires de microbiologie nationaux en évaluant les réactifs.
- → En collaboration avec l'AFSSAPS, le laboratoire a développé des contrôles externes des tests de détection des rotavirus dans les selles.

2. Investigation des cas groupés de gastroentérites

Cas groupés de gastroentérites en collectivités, principalement les établissements hébergeant des personnes âgées. Ils sont majoritairement dus aux norovirus. Ces gastroentérites surviennent principalement l'hiver, elles sont fréquentes (jusqu'à 50% des établissements selon les épidémies), elles désorientent le fonctionnement des établissements. L'impact économique et social pour ces établissements reste à évaluer. Le mode de transmission de personne à personne, la résistance des norovirus et leur très faible dose infectieuse rendent difficile la prévention de ces gastroentérites par les précautions standard d'hygiène. En outre, les norovirus du génogroupe II et du génotype 4 (GII.4) – le plus souvent impliqués - possèdent une étonnante capacité évolutive marquée par l'apparition de nouveaux variants à l'origine de nouvelles épidémies. Comprendre les mécanismes de cette évolutivité a été et sera encore un de nos objectifs pour les années à venir.

Cas groupés de gastroentérites d'origine alimentaire ou hydrique sont également souvent dues aux norovirus. Mais à la différence des précédentes, les deux génogroupes sont impliqués. En outre, les co-infections avec plusieurs norovirus ou d'autres virus, notamment le virus Aichi lorsque l'origine est hydrique ou la consommation d'huîtres.

- → Le CNR des virus entériques participe activement à un réseau de surveillance épidémiologique nationale en lien étroit avec l'InVS et les ARS.

 Pour ce qui concerne les gastro-entérites d'origine alimentaire ou hydrique nous collaborons très étroitement avec l'IFREMER (Dr S Le Guyader), l'ANSES (Maisons Alfort, Dr S Perelle et Nancy, Dr B Gassilloud) et le CNR des hépatites A et E (Pr AM Roque-Alfonso et J Isopet).
- → Le CNR des virus entériques participe aux réseaux européens (FBVE-Net) et mondiaux (Noronet). En collaboration avec ces réseaux, nous participons aux alertes lorsqu'un événement inhabituel comme la circulation de nouvelles souches responsables d'épidémies. Nous avons été parmi les premiers laboratoires de ce réseau à alerter de l'apparition du nouveau variant GGII.4 2012.
- → Tous ces phénomènes inhabituels font systématiquement l'objet d'une alerte à l'InVS.
- → Nous poursuivons les investigations de certaines gastro-entérites survenant dans un cadre particuliers (diarrhées chroniques à norovirus chez les transplantés ou immunodéprimés et entérocolites ulcéro-nécrosantes).
- → Notre expertise dans le domaine des norovirus est mise à profit pour d'une part les évaluations et d'autre part le développement de réactifs de diagnostic rapide par des méthodes d'immunochromatographie.

1.3. RESUME DES ACTIVITES DE 2012 ET OBJECTIFS 2013 - 2014

Les enjeux de santé publique présentés ci-dessus sont toujours d'actualité. La surveillance et l'alerte repose sur un réseau structuré permettant une bonne analyse de la situation nationale et européenne et une vigilance vis-à-vis de tout phénomène anormal permettant ainsi une anticipation des actions. La participation de notre CNR à ces réseaux nationaux et européens sera poursuivie pour les prochaines années 2013 – 2016. Ces réseaux nous permettent le partage des techniques et bases de données indispensables à notre expertise technologique (caractérisation des souches, alerte, optimisation des techniques ...). Nos collaborations avec l'InVS et sur le terrain avec les délégations territoriales des ARS nous permettent aujourd'hui d'intervenir sur l'ensemble du territoire et dans les départements d'Outremer

En appui des réseaux existants et bien structurés, nous envisageons d'étendre et organiser d'autres réseaux capables de nous apporter des informations complémentaires. Ainsi, nous poursuivrons nos efforts auprès de plusieurs Directions des Services Vétérinaires afin de recueillir les selles d'animaux diarrhéiques. L'analyse de ces prélèvements nous a déjà permis de montrer l'identité génétique entre certains rotavirus humains et bovins et ainsi de prouver l'origine animale de ces souches retrouvées chez des enfants. Nous poursuivrons nos collaborations avec des laboratoires du sud de la méditerranée afin de structurer un réseau avec les pays d'Afrique du Nord et d'Afrique Sub-saharienne. La caractérisation de souches atypiques est pour nous très importante. Leur plus grande fréquence dans ces régions et les flux migratoires augmentent le risque de leur apparition en France. Ce réseau nous permettra d'anticiper et comprendre les phénomènes d'émergence des nouvelles souches.

1.4. L'EQUIPE ET ORGANISATION DU CNR

1.4.1. Fiche d'identité du CNR

Coordonnées du CNR

CNR des virus entériques (entérovirus exclus), laboratoire de Virologie, Pôle de Biologie CHU de Dijon, BP 37013, 2, rue Angélique Ducoudray,

21070 Dijon Cedex, France

Nom et coordonnées du responsable scientifique

Pr Pierre POTHIER

CNR des virus entériques (entérovirus exclus), laboratoire de Virologie, Pôle de Biologie CHU de Dijon, BP 37013, 2, rue Angélique Ducoudray, 21070 Dijon Cedex, France

Téléphone: +33 (0)3 80 29 34 29 ou +33 (0)3 80 29 54 87

Téléphone secrétariat : +33 (0)3 80 29 34 37 ou +33 (0)3 80 29 35 23

Fax: +33 (0)3 80 29 32 80

E-mail: pierre.pothier@u-bourgogne.fr

Nom et coordonnées du responsable administratif

Monsieur Pierre-Charles PONS, Directeur Général

CHU de Dijon, BP 77908, 1, Boulevard Jeanne d'Arc, 21079 Dijon Cedex, France

Téléphone: +33 (0)3 80 29 35 75; Fax: +33 (0)3 80 29 34 21

E-mail: pierre-charles.pons@chu-dijon.fr

1.4.2. L'équipe

Responsable du CNR des virus entériques :

POTHIER Pierre, Professeur des Universités-Praticien hospitalier au CHU de DIJON.

Biologistes (2,9 ETP):

AGNELLO Davide: Pharmacien biologiste, Assistant Hospitalo-Universitaire. Immunologie, biologie moléculaire. Rotavirus, calicivirus. Responsable de projet.

Temps consacré à l'activité CNR : 0,5 ETP.

AMBERT-BALAY Katia: PhD, Biologiste. Responsable-adjoint du CNR.

Responsable du suivi des épidémies, des relations avec l'InVS, de la banque de données européenne. Responsable de projet.

Temps consacré à l'activité CNR : 0,8 ETP.

AUVRAY Christelle: Pharmacien biologiste, Praticien Hospitalo-Universitaire.

Responsable Assurance Qualité.

Temps consacré à l'activité CNR: 0.10 ETP.

BELLIOT Gaël: PhD, Biologiste. Biologie moléculaire. Calicivirus, astrovirus et autres virus entériques. Suivi des épidémies, des réseaux européens et des relations avec le CDC. Responsable de proiet.

Temps consacré à l'activité CNR: 1 ETP.

DE ROUGEMONT Alexis: Médecin biologiste, Praticien Hospitalo-Universitaire. Biologie moléculaire. Rotavirus, calicivirus. Responsable de projet.

Temps consacré à l'activité CNR: 0,25 ETP.

POTHIER Pierre: Médecin biologiste, virologie médicale, responsable du CNR, coordonnateur des réseaux nationaux, européens et internationaux. Suivi des épidémies. Rotavirus, calicivirus et autres virus entériques.

Temps consacré à l'activité CNR : 0,25 ETP

Techniciens (4,8 ETP):

BIDALOT Maxime: Virologie médicale, biologie moléculaire.

Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.

ESTIENNEY Marie: Virologie médicale, biologie moléculaire.

Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.

FREMY Céline : Virologie médicale, biologie moléculaire.

Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.

KAPLON Jérôme : Virologie médicale, biologie moléculaire.

Temps consacré à l'activité CNR: 0,8 ETP.

THERY Lucie: Virologie médicale, biologie moléculaire.

Temps consacré à l'activité CNR: 1 ETP.

Secrétariat, agent technique (1 ETP)

PLESSE Delphine: Secrétariat, gestion administrative: 1 ETP.

1.4.3. Organisation du CNR

Le CNR des virus entériques constitue l'UF 1861, adossée au laboratoire de virologie (UF 6114) et au pôle de biologie pour ses aspects techniques. Elle bénéficie de toutes les infrastructures communes du pôle de biologie à l'exception de la partie pré-analytique. La réception des prélèvements et leur enregistrement sont spécifiques.

L'ensemble des activités du CNR des virus entériques se réalise sur un seul site.

Le responsable du CNR (Pothier Pierre), les biologistes praticiens hospitaliers ou attachés hospitaliers (AGNELLO Davide, AUVRAY Christelle et DE ROUGEMONT Alexis) sont gérés par l'**UF 6114**. Les ingénieurs biologistes (AMBERT-BALAY KATIA et BELLIOT Gaël), les

techniciens (KAPLON Jérôme, ESTIENNEY Marie, BIDALOT Maxime, FREMY Céline THERY Lucie) et la secrétaire (PLESSE Delphine) sont gérés par l'**UF 1861.**

La **responsable qualité** du laboratoire de virologie (Dr Christelle AUVRAY) est également responsable pour les activités du CNR, elle est assistée d'un technicien du CNR (Jérôme KAPLON) qui sera son correspondant.

Toutes les **procédures d'hygiène** applicable au CNR sont celles de l'établissement et sont donc commune à celles du laboratoire de virologie.

Le **secrétariat** et la gestion administrative du « quotidien » est propre au CNR et nécessite une personne temps plein.

Les gestions administrative et financière du CNR sont assurées par le pôle de recherche du CHU de Dijon. Le correspondant administratif et financier est Madame Alexandra HOAR.

La gestion administrative du personnel affecté spécifiquement au CNR (2 ingénieurs et 5 techniciens) est assurée par le pôle de recherche (Monsieur Antoine LEZE, cadre supérieur du pôle recherche). La gestion de proximité est assurée par le cadre du laboratoire de virologie ou le responsable du CNR pour ce qui concerne les ingénieurs.

Tous les salaires des personnels du CNR (UF 1861) sont payés par le CHU de Dijon.

1.4.4. Organigramme du CNR et du laboratoire de virologie (2012)

C. AUVREY (RAQ) O. CARITEY (technicienne UF 6114) P			des virus entériques UF 6114 Des virus entériques UF 1861 Des POTHIER : Chef de service Des MARECHAL : Cadre de santé			Référent hygiène : C. LOBREAU (technicienne UF 6114)			
Direction Recherche C	linique et Inno	vation		Laborato	oire de vii	rologie / Pôle d	e biologie		
CNR des virus Welience entériques Unité de transfert						Biologie oléculaire	Cytométri	Cytométrie en flux	
P. POTHIER (PU-PH) A de ROUGEMONT (PHU) D. AGNELLO (PA) K. AMBERT-BALAY G. BELLIOT Ingénieurs de recherche	P. POTHIER (P DAV/ Ingénie	AL.	C. <i>F</i>	JB. BOUR C. AUVREY (PH)		THIER (PU-PH) . AUVREY B. BOUR (PH) JGEMONT (PHU MANOHA ur de recherche	P. POTHIER (PU-PH) A de ROUGEMONT (PHU) D. AGNELLO (PA)		
J. KAPLON M. ESTIENNEY M. BIDALOT L. THERY C. FREMY M. DARNIOT V. CARMAZANA		U E ,	C. JE V. LA C. PI H. G	B. GRAMMATICO C. JEAN-PIERRE V. LAURENT C. PITOISET H. GIRAUDON M. VILLAUME					
Secrétaire : D. PLESSE				Secr	étariat co	mmun microbi	ologie		

1.5. DEMARCHE QUALITE DU CNR

Le CNR des virus entériques est associé aux activités d'analyse du laboratoire de virologie et de sérologie du CHU de Dijon et entre donc, dans le cadre de leurs activités communes, dans la démarche qualité des analyses de biologie au sein du laboratoire.

En complément de ces activités de diagnostic, les analyses spécialisées effectuées au sein du CNR des virus entériques sont régies par un **système documentaire spécifique**.

1.5.1. Contrôle de qualité interne

Cette activité d'expertise est aussi soumise à des **contrôles de qualité internes systématiques** afin de garantir les résultats rendus par le CNR des virus entériques.

Contrôle de qualité de l'extraction des acides nucléiques (ARN) et témoin d'inhibition des RT-PCR conventionnelles : L'ajout d'un ARN synthétique dans l'échantillon clinique permet de contrôler la qualité de l'extraction automatisée sur plateforme NucliSENS EasyMAG (BioMérieux) et de vérifier l'absence d'inhibiteurs des RT-PCR conventionnelles. Ce dispositif mis en place au CNR des virus entériques vise ainsi à identifier les résultats d'analyses faussement négatifs. Le même dispositif est mis en place pour le contrôle qualité des techniques de RT-PCR en temps réel.

1.5.2. Contrôle de qualité externe européen

Dans ce même souci de qualité, le CNR des virus entériques participe tout au long de l'année à des contrôles de qualité externes spécifiques. Ces contrôles de qualité sont organisés par le réseau européen de laboratoires spécialisés que nous avons constitué. Trois types de contrôles de qualité externe ont ainsi été mis en place : l'un concerne la détection et la caractérisation des calicivirus humains et est géré par le RIVM aux Pays Bas ; un autre concerne la détection et la caractérisation des rotavirus et est géré par le Laboratoire spécialisé du Public Health Agency en Grande Bretagne ; un troisième concerne le contrôle qualité des entérovirus.

1.5.3. Centre de Ressources Biologiques

Nous avons également accès au Centre de Ressources Biologiques des CHU de Dijon-Besançon (Centre Ferdinand Cabanne) qui a été accrédité en 2009.

1.5.4. Accréditation

Enfin, toujours dans son approche de qualité, le CNR des virus entériques lui-même s'est engagé vers l'accréditation partielle en novembre 2013 selon la norme ISO 15189, avant l'ensemble du laboratoire de virologie et du pôle de biologie du CHU de Dijon dont l'accréditation ne sera pas avant 2016.

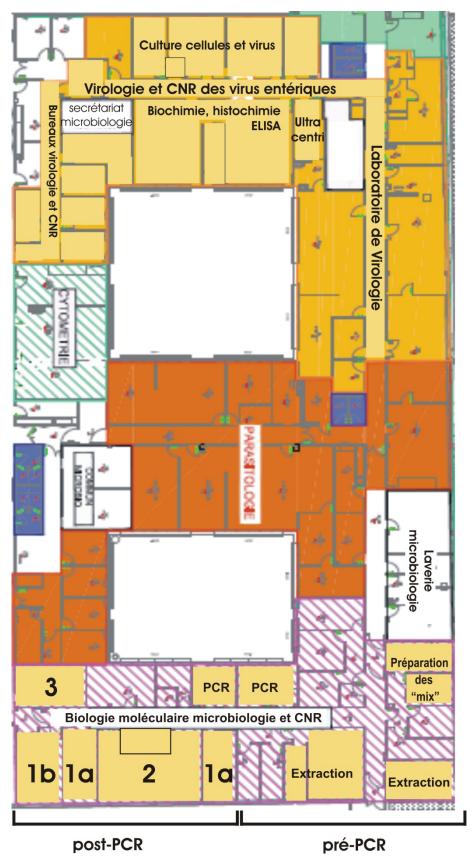


Figure 1 : Plan du laboratoire de virologie et place des activités liées au CNR des virus entériques. Dans la zone biologie moléculaire microbiologie, le CNR dispose de pièces communes avec les autres activités de virologie, il s'agit des pièces de préparation des « mix », d'extraction et celles des thermocycleurs. En post PCR, les pièces 1a sont dédiées au CNR et les pièces 2 et 3 sont partagées avec les autres activités de virologie du laboratoire.

1.6. DESCRIPTION DES LOCAUX ET EQUIPEMENTS

1.6.1. Les locaux

Le laboratoire de virologie et le CNR des virus entériques ont intégré de nouveaux locaux en mai 2008 (figure 1). Ces nouveaux locaux sont situés au Plateau Technique de Biologie, 2 rue Angélique Ducoudray, bâtiment regroupant tous les laboratoires du CHU de Dijon et l'EFS Bourgogne-Franche Comté.

La surface totale du laboratoire de virologie est d'environ 500 m² et se localise au 1^{er} étage. La réception des prélèvements et les salles de réunion se situent au rez-de-chaussée.

Les surfaces dédiées au laboratoire de virologie sont représentées en ocre clair sur le plan de la figure 1. Ces pièces sont en pression négative et se décomposent ainsi :

- o Bureaux spécifiques pour la virologie : 6 bureaux soit 54 m² dont 18 m² spécifiques pour le CNR.
- Virologie classique, culture de cellules, de virus : 3 pièces dont une en surpression, soit
 60 m² en grande partie dédiées au CNR.
- o Biochimie, immunologie : 2 pièces soit 50 m² pour moitié dédiées au CNR.
- o Pièces pour les ultracentrifugeuses, l'immunofluorescence.
- o Zone de biologie moléculaire commune aux services de microbiologie dont l'activité CNR :
 - Pièces Pré PCR : préparation des mélanges réactionnels (« mix »), pièces d'extraction.
 - Pièces pour thermocycleurs.
 - Pièces post-PCR dont 2 sont exclusivement dédiées aux activités du CNR.
- o Autres locaux disponibles :
 - Laboratoire L3 : 30 m²; Cytométrie en flux, 1 pièce de préparation et une pièce d'analyse: environ 30 m².
 - Secrétariat commun et laverie commune.

1.6.2. Les équipements

- o Tout l'équipement nécessaire pour la biologie moléculaire : thermocycleurs classiques et temps réel, électrophorèse, lecteurs de gel, salles pré et post PCR. Extracteur automatique d'acides nucléiques (BioMérieux et Beckman-Coulter).
- o Equipement pour le clonage (inoculation, centrifugeuses basse et moyenne vitesse..).
- Ultracentrifugeuses.
- Appareils d'immuno-analyse (ELISA). Immunofluorescence, appareil pour ELISPOT;
 Cytométre en Flux Canto II BD
- Salle propre en surpression de type L2. Tout l'équipement pour la culture de cellules et l'isolement de virus: Hotte à flux laminaire, étuves, incubateurs à CO2. Laboratoire de type L3 et son équipement.
- Services communs dans le plateau technique de Biologie ou sur le campus « CHU-Université-INRA » :
 - Séguenceurs (Plateau Technique de Biologie).
 - Séquenceur haut débit (Plateau Technique de Biologie).
 - Animalerie (Campus).
 - Accès au service de Microscopie Electronique (Campus)
 - Accès au Centre de Ressources Biologiques du CHU de Dijon (Centre Ferdinand Cabanne, Plateau Technique de Biologie).

2. ACTIVITES D'EXPERTISE

2.1. CAPACITES TECHNIQUES DU CNR

2.1.1. Liste des techniques de référence disponibles

Nous disposons de toutes les techniques de **biologie moléculaire (PCR et séquençage)** permettant le diagnostic et la caractérisation génotypique des norovirus, sapovirus, rotavirus (groupe A et C), adénovirus, astrovirus, Aichi virus, entérovirus, bocavirus, virus de l'hépatite A, CMV, Torovirus et Coronavirus. Les analyses phylogénétiques sont réalisées à l'aide de logiciels tels que « Code Aligner » et « Bionumerics » avec une base de données continuellement mise à jour et constituée de toutes les souches caractérisées dans le cadre du réseau européen ainsi que la GenBank, base de données internationale.

- o Nous utilisons des techniques de **PCR en temps réel** pour les **norovirus murin**, les **norovirus humains** GI et GII et pour les **rotavirus**. Ces techniques de PCR temps réel sont également utilisées pour détecter et **quantifier le virus celui excrété** dans les selles de patients transplantés afin d'adapter les traitements anti-suppresseurs.
- o Ces techniques sont aussi utilisées pour détecter d'autres virus entériques, notamment les adénovirus.
- o Nous disposons d'un séquenceur haut débit et cette technique sera adaptée à la problématique des virus entériques.
- O Nous maîtrisons les techniques de **culture du norovirus murin** et nous utilisons ce virus très proche des norovirus humains comme substitut dans l'évaluation des désinfectants et antiseptiques ou l'évaluation de l'efficacité virucide d'un traitement technologique des aliments.
- o Nous avons adapté les nouvelles souches de **virus Aichi** en culture sur cellules afin d'obtenir des quantités suffisantes pour sa caractérisation. Aujourd'hui, nous avons une collection des différentes souches et un stock d'antigène pour la réalisation de **tests sérologiques virus Aichi** nécessaires aux enquêtes de prévalence que nous conduisons en France et dans les pays du bassin Méditerranéen ou d'Afrique.
- o 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.
- o Par ailleurs, nous avons accès à un service de **microscopie électronique** par une convention entre le CHU et l'INRA.

2.1.2. Collection de souches, d'antigènes ou d'anticorps de référence

2.1.2.1. 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 (VLPs) et d'anticorps monoclonaux.

Collection de souches ou prélèvements.

o Notre collection de virus capable de se multiplier en culture comprend :

Rotavirus bovin (souche RF); simien (souche SA11).

Virus Aichi A.

Astrovirus type 4 et type 8.

- o Notre **collection de souches** parfaitement caractérisées est importante en quantité et en diversité. Elle comprend la plupart des génotypes 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 reste du monde dont le CDC aux USA en réactifs de référence.
- o Elle comprend également plusieurs souches d'astrovirus, de sapovirus et d'adénovirus avec une diversité de sérotypes ou de génotypes.
- o Par ailleurs, nous disposons d'une collection de virus isolés à partir de selles bovines. Il s'agit de **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 de norovirus et de rotavirus détectés chez l'homme et une grande variété de souches de sapovirus, d'astrovirus et de virus Aichi. Cette collection nous permet, entre autres, l'évaluation des nouveaux réactifs ainsi que la fourniture de contrôles externes aux laboratoires français souhaitant développer le diagnostic de ces virus entériques.

L'ensemble des caractéristiques des virus de notre collection est inclus dans une **banque de données européenne** (séquences génomiques, localisation de l'épidémie, origine de la contamination). Nous utilisons en retour cette banque pour la vérification et la comparaison des séquences génomiques des virus caractérisés dans notre laboratoire.

Collection de gènes clonés et de pseudo particules virales (VLPs).

- o La plupart des virus responsables de gastroentérites ne se multiplient pas sur cellules ou pour certains difficilement 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**. Nous pouvons ainsi disposer d'une **source inépuisable du matériel génétique des souches virales d'intérêt**.
- o Concernant les norovirus humains, nous avons entrepris un programme d'expression du gène codant la protéine de capside afin de fabriquer des **pseudo-particules recombinantes de norovirus (VLPs)**. Aujourd'hui, nous disposons de 11 VLPs correspondant à des souches caractéristiques des principaux norovirus humains :
 - VLPs disponibles:
 - √ norovirus de génogroupe I : GI.1, GI.2 et GI.3 ;
 - ✓ norovirus de génogroupe II : GII.3, GII.4, GII.6 et GII.12.

Pour le génotype GII nous disposons des VLPs correspondantes aux variants Bristol, US95/96, Hunter₂₀₀₄, 2006a, 2006b, Le Caire et 2008.

Nous avons entrepris la construction de VLP du variant 2012.

Les VLP GI.1 et GII.4 (Bristol) ont été conçues par le NIH-USA qui nous a confié ces VLP pour des travaux académiques.

Collection d'anticorps monoclonaux.

o **Anticorps monoclonaux anti rotavirus**: Nous disposons d'une collection d'anticorps monoclonaux dirigés contre les protéines VP6 et VP4 du rotavirus. Ces anticorps monoclonaux sont utilisés en diagnostic dans certains réactifs commercialisés.

o En collaboration avec bioMérieux, nous développons un programme de fabrication d'anticorps monoclonaux dirigés contre les norovirus humains à partir de pseudo-particules précédemment citées. Nous disposons d'anticorps monoclonaux obtenus à partir des génogroupes I et II (GI et GII). Ces anticorps seront utilisés d'une part pour l'étude de l'évolutivité des souches de génogroupe II et de génotype 4 (GII.4) et d'autre part pour le développement d'un réactif pour immunodiagnostic (immunochromatographie ou autre méthode immuno-enzymatique).

2.1.2.2. Conditions de stockage

- o Nos prélèvements sont répartis en aliquotes : cryotubes de 1,8ml.
- o Conservés à -40°C ou -80°C
- Les plasmides norovirus sont conservés à -20°C dans de l'eau pure Milli-Q (Millipore[®]).
- o Ils sont « anonymisé »s et identifiés par numéro unique. Ils sont classés et répertoriés en fonction du ou des virus présents.

2.1.2.3. Conditions de mise à disposition des souches

- o Nos prélèvements et nos souches caractérisées sont disponibles gratuitement à tous les laboratoires publics ou privés qui en font la demande.
- o Ainsi, durant les années 2006 à 2010 nous avons transmis :
 - des souches parfaitement caractérisées à plusieurs laboratoires en France et à l'étranger.
 - des VLP ou des plasmides en baculovirus (sous réserve d'un contrat de transfert pour utilisation à but non lucratif) à plusieurs laboratoires de recherche en France et en Suède.
 - La mise à disposition de prélèvements ou de matériel viral ou recombinant (VLPs et plasmides) à des sociétés privées est possible dans le cadre d'un contrat entre les établissements.

2.2. ACTIVITES D'EXPERTISE DU CNR (ANNEE 2011)

2.2.1. Evaluation des trousses de diagnostic de norovirus

o Nous avons complété l'évaluation des trousses R Biopharm et évalué trois nouveaux réactifs disponibles, ImmunoCardSTAT de la société Médian (réactif Denka), Norotrop de la société All Diag et SD BioLine norovirus de la société Alere. (publication internationale n°7) et plus récemment la trousse développée par ActimNor et commercialisée par Fumouze.

SENSIBILITE

	RidaQuick Norovirus RBiopharm	immunoCard STAT Norovirus Meridian Bioscience	Norotop All Diag	SD BioLine Norovirus Alere	ActimNor (Fumouze)				
	Sensibilité (en %)	Sensibilité (en %)	Sensibilité (en %)	Sensibilité (en %)	Sensibilité (en %)				
Génogroupe I	17%	26%	52%	23%	43%				
Génogroupe II	64%	39%	50%	54%	64%				
GII.4	78%	59%	61%	67%	73%				

Tableau 1 : Comparaison de la **sensibilité** de 3 trousses de détection des norovirus par immunochromatographie sur un ensemble de génotypes représentatifs. La **spécificité** de ces 3 trousses est équivalente, proche de 100%.

Les résultats de la sensibilité de ces réactifs sont présentés dans le tableau 1. La sensibilité est très faible pour les norovirus du génogroupe I, à l'exception du réactif Norotop All Diag (52%). Pour la détection des norovirus du génogroupe II, elle s'étale entre 39% et 64%. La sensibilité varie de 59 à 78% pour le génotype GII.4. Sachant que cette souche est prédominante dans les épidémies hivernales touchant les établissements hébergeant des personnes âgées, on peut considérer ces tests utiles pour un premier diagnostic rapide dans ce contexte, sous réserve qu'il n'y ait pas de dérive antigénique de ces souches les rendant non détectables par ces tests.

2.2.2. Evaluation des procédés virucides.

- o **2009 2012**: Nous utilisons le norovirus murin pour évaluer l'efficacité virucide des traitements technologiques utilisés dans l'industrie agro-alimentaire en mesurant le pouvoir infectieux du virus (par titrage) et dénombrant les génomes viraux par PCR en temps réel. La maîtrise de ce savoir-faire nous permet de collaborer avec différents laboratoires dans le cadre de contrats ANR (ADHERESIST et SPICECLEAN).
- → Ainsi, en utilisant le **norovirus murin** comme virus test, nous avons montré que :
 - Les norovirus étaient sensibles à l'humidité relative ambiante ;
 - les techniques utilisant les hautes pressions n'étaient pas efficaces ;
 - au contraire, celles utilisant la lumière pulsée étaient efficaces.

2.2.3. Investigations virologiques de cas sporadiques.

2.2.3.1. Entérocolites ulcéro-nécrosantes

Nous avons exploré 1 épidémie d'entérocolites ulcéro-nécrosante en 2012 (14 épidémies et 76 nouveau-nés depuis 2006). La recherche de virus entériques a été négative pour les 3 selles analysées

2.2.3.2. Surveillance de patients immunodéprimés

– En collaboration avec les services de transplantations de l'hôpital Necker (AP-HP), nous avions montré l'importance du norovirus dans les diarrhées chroniques survenant chez l'immunodéprimé. Ce travail a été publié dans la revue « *Transplantation* ». En parallèle nous avons largement ouvert les facilités de notre laboratoire aux services traitant ces immunodéprimés et aidé les laboratoires de virologie de CHU correspondants à mettre en place localement les méthodes moléculaires de détection.

Nous avons suivi **83 patients transplantés** de l'hôpital Necker présentant une diarrhée chronique (soit 118 prélèvements analysés). Pour 46 patients la recherche virale était négative.

Pour **32 patients, un norovirus** a été détecté (représentant un total de 72 prélèvements).

- Sur l'ensemble de l'année 2012 nous avons reçu 290 selles représentant le suivi de 247 patients provenant de différents hôpitaux. Pour 76 patients nous avons retrouvé au moins une selle positive (30,8%) et pour 46 patients nous avons retrouvé un norovirus dans au moins une selle (18,6%).

La responsabilité des norovirus dans les diarrhées chroniques chez les transplantés et plus généralement les immunodéprimés est maintenant reconnue par les cliniciens. Notre CNR est ouvert aux laboratoires des CHU et CH suivant des immunodéprimés pour faciliter l'implantation des techniques de biologie moléculaire et disponible pour les caractérisations moléculaires plus poussées (par exemple caractérisation des variants). Nous avons commencé des travaux, notamment épidémiologiques avec les cliniciens afin de mieux comprendre ces infections.

- Au total depuis janvier 2009 nous avons reçu 584 prélèvements provenant de 23 hôpitaux suivant des transplantés. Cela représente le suivi de 466 patients pour lesquels on a reçu au moins 1 selle. Cent cinquante trois patients (32,8%) avaient au moins une selle positive pour un des virus entériques recherchés. Un norovirus était retrouvé chez 107 patients soit dans 23% des diarrhées, venaient ensuite les sapovirus (2,6%) et les adénovirus (2,4%).
- La grande majorité des norovirus sont du sous groupe II (140 contre 4 pour le sous-groupe GI. Parmi les norovirus du sous-groupe II, le génotype GII.4 est le plus fréquent mais la particularité est l'importance des génotypes GII.6 et GII.7 qui est présent dans 29 prélèvements.
- Les variant norovirus GII.4 évoluent comme dans la population générale; les variants GII.4-2006a et b sont principalement retrouvé au début de l'étude et jusqu'en 2010, remplacé par le variant 2010 puis dans le deuxième semestre 2012 l'apparition du variant 2012.
- Contrairement à nos observations recueillies dans la population générale ou âgée, nous n'avons pas observé d'incidence saisonnière (figure 2).

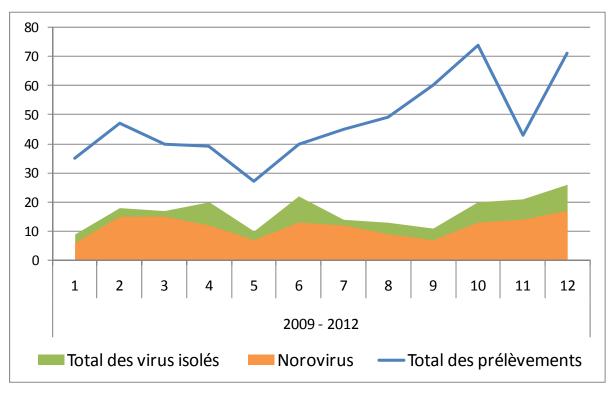


Figure 2 : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des immunodéprimés sur les 594 prélèvements reçus entre janvier 2009 et décembre 2012.

2.2.4. Investigations virologiques des épidémies.

Epidémies année = nombre	Virus	Noro	Sapo	Rota A	Adéno	Astro	Aichi	Entéro	Agent inconnu
2008 = 155	Monoinfections : 116	107	1	4	0	2	0	2	26
	Infections mixtes: 13	12	6	5	0	0	2	1	
2009 = 184	Monoinfections : 139	126	1	10	0	1	1	0	30
2000 101	Infections mixtes: 15	15	15	4	0	3	3	1	
2010 = 276	Monoinfections : 214	202	2	6	1	2	1	0	39
2010 210	Infections mixtes: 23	21	1	5	1	1	5	3	
2011 = 272	Monoinfections : 203	188	6	9	0	0	0	0	47
	Infections mixtes: 22	44	1	2	1	1	1	3	
2012 = 337	Monoinfections : 266	237	5	20	4	0	0	0	58
	Infections mixtes: 13	26	5	7	3	2	2	1	

Tableau 2 : Epidémies investiguées et virus recherchés et caractérisés.

Année 2012 : Epidémies positives : Prélèvements reçus : moyenne : 3,6 selles/épidémie +/- 2,3 ; médiane : 3 selles/épidémie ; Prélèvements positifs : moyenne : 2,8 / épidémie +/- 1,8 selles/épidémie. → pour environ 4 selles reçues 3 étaient retrouvées positives.

Epidémies négatives : Prélèvements reçus : moyenne : 2,6/épidémie +/- 2,4 et médiane : 2/épidémie.

Ces chiffres sont très comparables à ceux de 2011.

- o Dans la quasi-totalité des épidémies, l'alerte a été effectuée par l'InVS, 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 plus rarement lorsque le nombre de prélèvements le justifiait par un transporteur agréé ayant une convention avec le CNR (société TSE).
- o En 2012, nous avons expertisé 338 épidémies dont 279 étaient positives pour un virus entérique soit 82,5% (pour 94,3% un norovirus était retrouvé dans les prélèvements de selles seul ou associé à un autre virus). De ces épidémies, 1172 prélèvements ont été analysés dont 781 étaient positifs pour au moins un des virus entériques (67,13%). Pour les épidémies retrouvées positives pour un virus entérique, nous avons reçu en moyenne 4 selles par épidémie (total 1015 selles) et 3 d'entre elles étaient positives pour un de ces virus (total 781 selles positives). Le nombre de selles reçues était moindre dans les épidémies restées sans étiologie (bien que de façon non significative).

Ces chiffres soulignent la nécessité d'analyser **au moins 4 selles par épidémie** si l'on veut avoir le maximum de chance d'identifier le virus responsable de l'épidémie.

2.2.5. Principales souches virales caractérisées lors de ces épidémies.

- o Norovirus: 272 souches caractérisées dans 338 épidémies.
 - Génogroupe I (GI) : 33 souche, parmi lesquelles:
 - ✓ GI.3 (6); GI.4 (5); GI.6 (1); GI.7 (3); GIb/GI.6 (4).
 - Génogroupe II (GII) : 239, parmi lesquelles :
 - ✓ GII.1 (1); GII.2 (2); GII.3 (3); **GII.6 (9)**; GII.7 (8); GII.7/GII.6 (6); GII.13 (1); **GIIe/GII.4 (14)**.
 - ✓ **GII.4**: 162 souches GII.4₂₀₁₂ (87) . GII.4₂₀₁₀ (89) ; GII.4₂₀₀₈ (1).

Rappel 2006-2011): Norovirus: 649 souches caractérisées.

- 83 Génogroupe I (GI) :
 - o Gl.1 (8); Gl.2 (10); Gl.3 (5); Gl.4 (26); Gl.5 (5); Gl.6 (3); Gl.7 (6); Gl.8 (5); Gl.9 (4); Gl.10 (2); Gl.12 (3); Gl.14 (1).
- 813 Génogroupe II (GII) :
 - GII.1 (1); GII.2 (13); GII.6 (28); GII.7 (8); GII.7/GII.6 (4); GII.8 (1); GII.9 (1);
 GII.11 (1); GII.13 (12); GII.14 (1); GII.15 (1); GII.16 (1); GIIb/GII.3 (16);
 GIIg/GII.12 (25)
 - GII.4: 495. Notamment les variants 2004 (11); 2006a (69); 2006b (227);
 Le Caire (10); 2008 (15), 2010 (329)
- Rotavirus (27 souches retrouvées dans 11 épidémies):
 les principaux génotypes : 3 G1P[8] ; 4 G2P[4] ; 2 G3P[8] ; 5 G4P[8] ; 1 G9P[8].
- o Sapovirus: 10 souches dont 5 sont de génogroupe Gl.2.
- o Aichi virus : 2 souches retrouvées dans des épidémies d'origine alimentaire.
- o Astrovirus: 2 souches.
- o Entérovirus : 1 souche.
- o Adénovirus: 8 souches.

Rappel 2006-2011:

- Rotavirus: 67 souches dont les génotypes G1P[8]; G2P[4]; G3P[8]; G4P[8]; G9P[8];
- Sapovirus : 25 souches de Génogroupe I.2 ;
- Aichi virus : 20 souches de génogroupe B :et génogroupe A ;
- Astrovirus: 14 souches dont génotype 1 (6); génotype 4 (2); génotype 8 (3);
- Entérovirus : 16 ;
- Adenovirus : 1 (sérotype 41).

2.2.6. Conclusions sur les virus entériques caractérisés dans les épidémies.

Activité supérieure à 2011 (+24,3%) : Le nombre des épidémies traitées est supérieur à celui de 2011, il en est même du nombre de selles traitées et de souches caractérisées.

Prédominance des norovirus du génotype GII.4 variant 2010 et variant 2012. Le variant 2010 a complètement remplacé les variants 2006a et b et 2008 dès le premier semestre de l'année 2011. Le nouveau variant 2012 est apparu au deuxième semestre 2012 est c'est le variant responsable de la majorité des épidémies de l'hiver 2012 / 2013.

Pour ce qui concerne les autres génotypes, chaque saison apparaît un ou plusieurs génotypes qui émergent mais qui ne persistent guère plus d'une saison.

Les rotavirus ont été le seul virus retrouvé dans 20 épidémies (sur un total de 27 épidémies). Dix-neuf de ces épidémies s'étaient déroulées dans des maisons de retraite avec comme mode de transmission de personne-à-personne (12) ou inconnu (7). Une épidémie s'était déroulée à la suite d'un banquet.

Les sapovirus ont été le seul virus retrouvé dans 5 épidémies.

Les adénovirus ont été le seul virus retrouvé dans 4 épidémies.

Les astrovirus, Aichi virus et entérovirus n'ont été retrouvés qu'en association avec des norovirus.

3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

3.1. EVOLUTION ET CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS A ROTAVIUS

3.1.1. Réseau de partenaires et répartition géographique

Dès 2001, nous avions commencé une surveillance moléculaire des souches de rotavirus en milieu pédiatrique en prévision de la prochaine disponibilité de vaccins anti-rotavirus. Depuis 2004 et surtout l'hiver 2006 nous avons mis en place un réseau de surveillance épidémiologique et moléculaire des rotavirus comprenant 11 CHU de province et 3 établissements de l'Assistance Publique de Paris (figure 2). S'ajouteront à partir de 2008 le CH de Charleville-Mézières et un groupement de laboratoires privés de la région parisienne (Val de marne) et un autre de la région dijonnaise.

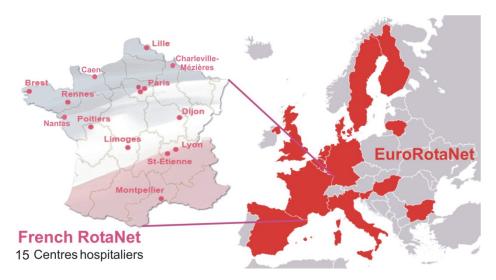


Figure 3 : Répartition des centres participant à l'étude rotavirus en milieu pédiatrique

Ce réseau national est connecté à un plus large réseau européen - **EuroRotanet** - calqué sur le réseau déjà mis en place avec le programme « EVENT ».

3.1.2. Principaux résultats.

3.1.2.1. Bilan de la surveillance des saisons 2006-2012

Seize centres ont participés à cette étude depuis 2006 et **12 centres ont envoyé des prélèvements durant la saison 2011-2012**.

Au total, nous avons reçu et analysé 4432 prélèvements dont 861 durant la saison 2011-2012 (tableaux 3 et 4 / figures).

Centre	Nbre d'échantillons	Centre	Nbre d'échantillons
Brest	164	Orléans	152
Caen		Paris Armand-Trousseau	
Charlevelle-Mézière	2	Paris Robert-Debré	5
Dijon	22	Paris St-Vincent-de-Paul	
Lille	84	Poitiers	21
Limoges	8	Rennes	63
Lyon	216	Saint-Etienne	98
Montpellier	26		Total : 861
Nantes			

Tableau 3: Participation des centres durant la saison 2010-2011.

Analyse globale de la répartition des combinaisons génotypiques G/P :

Résultats obtenus en France (figure 4): Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2011-2012 représente 4432 souches de rotavirus (figure 4 et tableau 4) totalement ou partiellement caractérisées. Les cinq principales combinaisons de génotypes G/P ont été durant ces quatre années : G1P[8] (61,5%) suivie de G9P[8] (16,6%), cumulant à elles seules 78,1% des souches détectées, puis G2P[4] (8,2%) Les autres combinaisons classiques, G3P[8] (5,5%) et G4P[8] (3%), représentaient moins de 9%. Ainsi, les 4 combinaisons génotypiques classiques et incluses dans un des vaccins (G1P[8]/G2P[4]/G3P[8] et G4P[8] représentaient environ 78%. Le « nouveau » génotype G9P[8] représente le deuxième génotype en terme de fréquence mais diminue nettement depuis 2009 (en 2009-2010 le génotype G2P[4] était avant G9P[8]).

Les **génotypes ou combinaisons atypiques** représentent **3,0%** (en incluant le génotype G12P[8]) et les infections mixtes 2,2%.

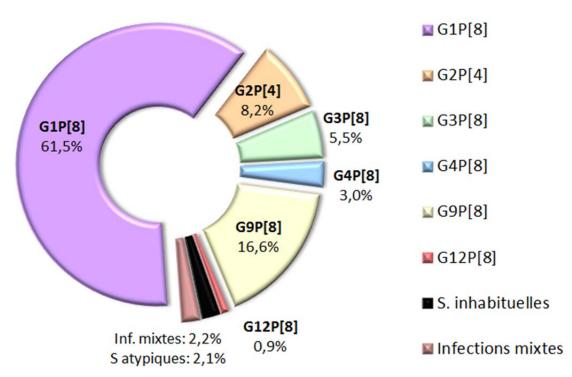


Figure 4 : Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés **en France** durant l'ensemble de la surveillance 2006-2012 (4432 souches).

Les résultats obtenus en Europe (figure 5) sont sensiblement différents de ceux observés en France pour 2 combinaisons génotypiques. Le génotype G9P[8] est plus fréquent en France que dans l'ensemble des pays européens participant à l'étude, 16,6,% en France contre 11,9% pour l'ensemble. Au contraire, le génotype G4P[8] est moins fréquent en France, 3,0% contre 15,4%.

Mais ces résultats globaux ne montrent pas l'extrême diversité d'un pays à l'autre ; diversité que nous avions nous même montré en France selon les régions étudiées.

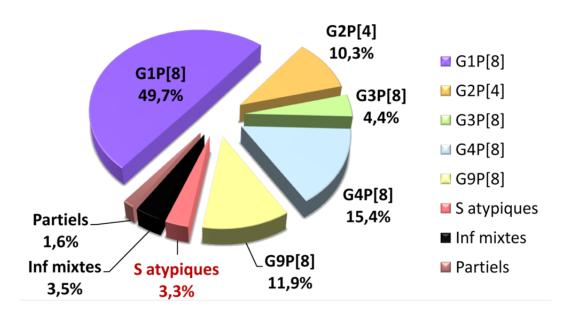


Figure 5 : Distribution des combinaisons génotypiques des rotavirus détectés **en Europe** durant l'ensemble de la surveillance 2006-2009 (Iturriza-Gomara et coll. 2011).

Analyse séparée de la répartition des génotypes G ou P :

L'analyse séparée des **génotypes G** (tableau 4 et figure 6a et 6b) montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France ont été les génotypes **G6** (0,2%), **G8** (0,2%) et **G12** (1,0%). Un seul rotavirus de génotype G10 a été caractérisé génotype G sur l'ensemble de l'étude (prélèvements effectué durant la dernière saison 2011-2012). Nous avions montré l'an passé que les souches de génotypes G6 et G8 ont une origine animale probable. Le fait marquant de cette dernière saison est l'augmentation des souches de rotavirus G3, mais surtout celles de **génotype G12 : 31 souches en 2011-2012 soit 3,6% des souches caractérisées (figure 6b et)**.

Les **génotypes P** sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** (89,5%), alors que le génotype **P[4]** représente 9,1%. Ce résultat concernant le génotype P[4] est à considérer dans le suivi des effets de la vaccination (en particulier le vaccin Rotarix®, G1P[8]). Les génotypes atypiques en France étaient représentés par **P[3]**, **P[6]**, **P[9]** et **P[14]**: 40 souches soit 1% de l'ensemble.

La constance de la prévalence du génotype P[8] sur les 6 années de l'étude est rassurante et à souligner pour l'efficacité de la vaccination puisque les deux vaccins commercialisés possèdent cette valence antigénique dans leur composition.

	Nom	bre de souc	hes détectées	s (%)	Total (%)						
	2006-2	2011	2011-	-2012	2006-2012						
	<i>n</i> =3571 (%)		<i>n</i> =86	1 (%)	N=443	32 (%)					
Génotypes	Génotypes G (incluant les infections mixtes)										
G1	2279	(63,8)	483	(56, 1)	2762	(62,3)					
G2	321	(9)	55	(6,4)	376	(8,5)					
G3	132	(3,7)	142	(16,5)	274	(6,2)					
G4	102	(2,9)	34	(3,9)	136	(3,1)					
G6	8	(0,2)	2	(0,2)	10	(0,2)					
G8	9	(0,3)	2	(0,2)	11	(0,2)					
G9	627	(17,6)	103	(12,0)	730	(16,5)					
G10	0	(0)	1	(0,1)	1	(0,0)					
G12	14	(0,4)	31	(3,6)	45	(1,0)					
G1 + G2	10	(0,3)	0	(0,0)	10	(0,2)					
G1 + G3	5	(0,1)	2	(0,2)	7	(0,2)					
G1 + G4	3	(0,1)	3	(0,3)	6	(0,1)					
G1 + G9	43	(1,2)	1	(0,1)	44	(1,0)					
G2 + G3	1	(0,0)	0	(0,0)	1	(0,0)					
G2 + G4	1	(0,0)	0	(0,0)	1	(0,0)					
G2 + G9	2	(0,1)	0	(0,0)	2	(0,0)					
G3 + G4	1	(0,0)	0	(0,0)	1	(0,0)					
G3 + G9	10	(0,3)	2	(0,2)	12	(0,3)					
G4 + G9	3	(0,1)	0	(0,0)	3	(0,1)					
Génotypes	P										
P[3]	1	(0,1)	0	(0,0)	1	(0,0)					
P[4]	349	(9,8)	55	(6,4)	404	(9,1)					
P[6]	27	(0,8)	2	(0,2)	29	(0,7)					
P[8]	3167	(88,7)	798	(92,7)	3965	(89,5)					
P[9]	2	(0,1)	0	(0,0)	2	(0,0)					
P[14]	6	(0,2)	2	(0,2)	8	(0,2)					
P[4]+P[8]	19	(0,5)	0	(0,0)	19	(0,4)					
P non typé			4	(0,5)	4	(0,1					

Tableau 4 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2011

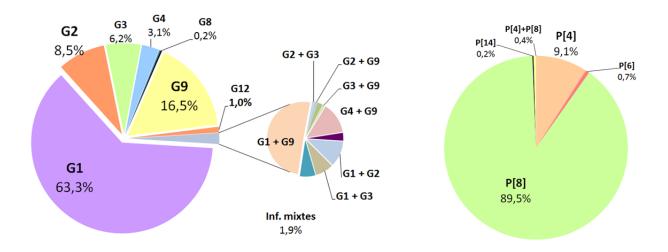


Figure 6a : Distribution des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2012.

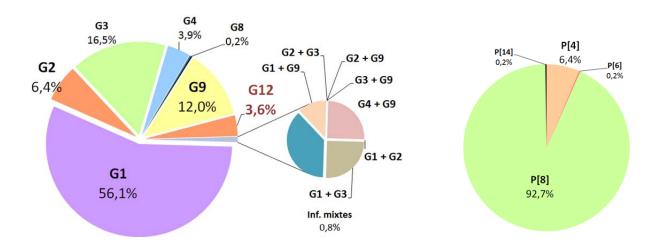


Figure 6b : Distribution des génotypes G et P détectés en France durant la saison 2011-2012.

3.1.2.2. Variations temporo-spatiales des infections à rotavirus

Variations temporelles des génotypes de rotavirus (figure 7 à 8) :

Génotypes G:

Les variations selon les saisons concernent tous les génotypes majoritaires, mais durant la période de surveillance elles ont été plus marquées pour les **génotypes G9 G2 et G3 pour la saison 2011-2012**.

- Le génotype G1 est le génotype largement majoritaire pour toutes les saisons, à l'exception de 2004-2005. Ce phénomène a été également observé dans les autres pays européens du réseau. Cette prévalence élevée et continue serait due à l'émergence régulière de nouveaux variants antigéniques sous l'effet de la pression immunitaire.
- **Génotype G9**: Nous avons détecté pour la première fois en France le génotype G9 en 1998 mais il est resté rare jusqu'en 2004. Durant l'hiver 2004-2005 ce génotype G9 est devenu brusquement la souche majoritaire et depuis reste, au moins en France, le deuxième génotype en termes de fréquence, après le génotype G1. Il existe une variabilité selon les

saisons, devenu brusquement le génotype majoritaire en 2004-2005 avec 67,6% des souches analysées, il s'est stabilisé entre 16,4 et 25,9% de 2005 à 2009 puis aux alentours de 10,0% de 2009 et 2012. Le fait marquant des saisons 2009 à 2011 est la décroissance de la prévalence du génotype G9 qui environ 10% des souches isolées. Cette décroissance est observée dans tous les centres.

- **Génotype G2**: La surveillance de ce génotype présente un intérêt particulier car le vaccin monovalent ne contient que les génotypes G1 et P[8]. Il existe une **variabilité cyclique de la prévalence de ce génotype.** Durant les saisons 2006-2007 et 2009-2011, sa prévalence était respectivement de 12,9 et 18,5% alors qu'elle ne dépassait pas 6% les autres saisons.
- Génotypes G3 et G4 : La prévalence de ces génotypes fluctue de façon cyclique. De 2006 à 2011 ces génotypes ne représentaient pas un grand nombre de souches (moins de 5,0% des souches caractérisées). Mais le génotype G3 représentait 13,4% des souches de la saison 2011-2012.

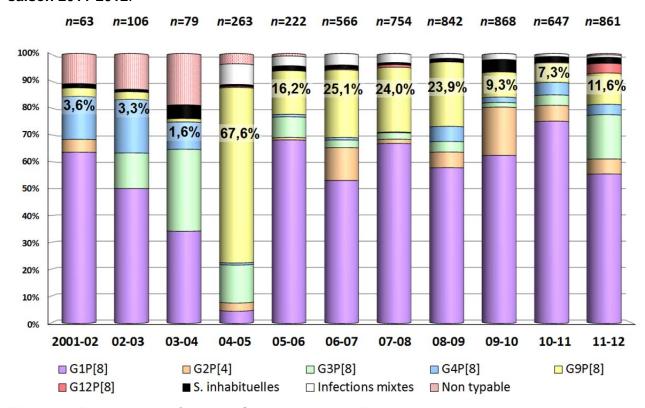


Figure 7 : Evolution des génotypes G de rotavirus en France entre 2001 et 2012.

Génotypes P :

La variabilité constatée pour les génotypes G n'est pas retrouvée pour les génotypes P. Le génotype P[8] est très largement majoritaire tout au long de l'étude et quel que soit le centre d'origine du prélèvement (figures 6a et b).

o Souches ou combinaisons inhabituelles (tableau 4, figure 8):

Il s'agit de génotypes habituellement non détectés ou rares chez l'homme. Il s'agit des génotypes G6, G8, G10, G12, P[3], P[6], P[9] et P[14]. Sur l'ensemble de l'étude elles représentent 2,4% des souches et 5,8% en 2012.

Certaines de ces souches (environ 1%) peuvent être d'origine animale.

Des résultats de notre surveillance, le génotype G12 est le plus important et doit être surveillé. Ce génotype est bien adapté à l'homme et représentait 3,6% des souches isolées durant la dernière saison 2011-2012.

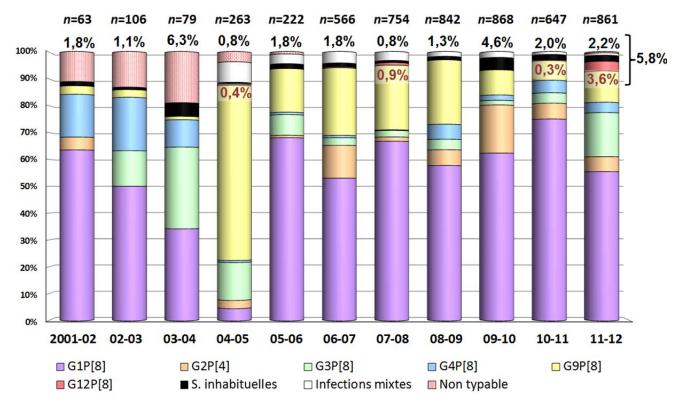


Figure 8 : Evolution des génotypes ou combinaisons génotypiques inhabituels de rotavirus en France entre 2001 et 2012 (en noir le pourcentage global)

Variabilité géographique des génotypes de rotavirus :

Nous avons montré dans les précédents rapports qu'il existe également une variabilité géographique, selon les centres et, pour l'étude européenne, selon les pays. Cette variabilité concerne tous les génotypes.

3.1.2.3. Conclusion

Cette surveillance épidémiologique des souches de rotavirus s'est effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale. En effet, la couverture vaccinale ne dépasse pas 8% tous vaccins confondus.

Les résultats significatifs sont :

- La large prédominance du génotype G1 à l'exception de la saison 2004-2005.
- L'émergence du génotype G9 comme nouveau génotype majeur avec G1, G2, G3 et G4.
- La variation cyclique des génotypes G2, G3 et G4. Notre étude a particulièrement mis en évidence celle du génotype G2P[4]. La variation du génotype G2P[4] doit être surveillée compte tenu de l'utilisation d'un vaccin monovalent.
- Il existe une très grande variabilité géographique.
- La stabilité de la fréquence des souches inhabituelles et l'existence de **souches d'origine animale** infectant les enfants de cette étude.
- Mais apparition significative du génotype G12 et 2011-2012. Cette émergence a été signalée dans d'autres régions, en Espagne par exemple, et dans une étude que nous effectuons au Niger.

3.2. DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES

3.2.1. Réseau de partenaires et répartition géographique

o l'InVS 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 **l'InVS** pour la coordination des investigations épidémiologiques et virologiques. L'InVS et les **CIRE** réalisent les investigations épidémiologiques. **Un point hebdomadaire téléphonique avec l'InVS** est réalisé tous les mardis pour coordonner et suivre au plus près les investigations virologiques et épidémiologiques.

Outre ce point hebdomadaire, nous avons avec les CIRE, les Délégations territoriales des ARS et les établissements concernés des contacts étroits tout au long du traitement de l'épidémie (rendu rapide des résultats, éventuellement résultats intermédiaires, information sur les virus en cause et les antiseptiques ou désinfectants efficaces).

o Les autres laboratoires de référence

- **IFREMER** Centre de Nantes (Dr Soizic 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 (« EVENT/DIVINE »). Nous collaborons étroitement et en temps réel pour tous les cas groupés de gastroentérites 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 gastroentérites 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).
- Centres de Référence pour les Hépatites A et E. AP.HP Paris Paul Brousse (Pr Elisabeth DUSSAIX) et CHU de Toulouse (Pr Jacques IZOPET). Nous collaborons étroitement avec ces CNR, notamment pour les épidémies d'origine hydrique ou alimentaire.
- Centres de Référence des entérovirus, Hospices Civils de Lyon (Pr Bruno LINA) et CHU de Clermont-Ferrand (Pr Hélène PEIGUE-LAFEUILLE). Nous collaborons étroitement avec les CNR des entérovirus : nous assurons la détection dans les selles, en cas de positivité le virus ou le prélèvement est adressé au CNR des entérovirus pour une caractérisation moléculaire et une enquête virologique spécifique.

3.2.2. Provenance des échantillons

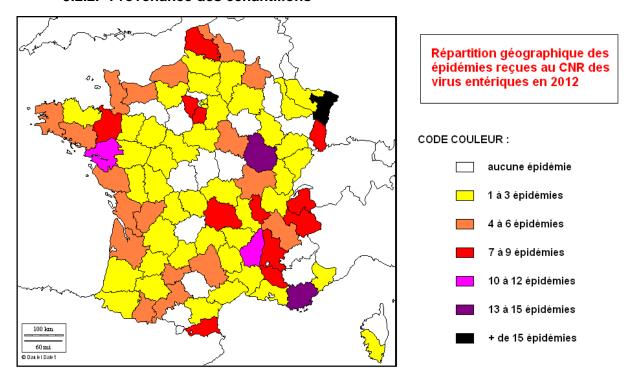


Figure 9 : Répartition géographique des épidémies reçues durant l'année 2012.

3.2.3. Caractéristiques des épidémies (2007-2012)

3.2.3.1. Nature et évolution des épidémies

Une saisonnalité hivernale très marquée pour les épidémies survenant en établissements de soins :

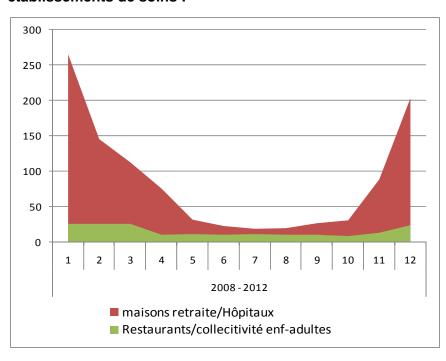


Figure 10 : Plus de 85% des épidémies analysées au CNR sont survenues entre **novembre et mars.**

La saisonnalité est très marquée pour les épidémies survenant en établissements de soins.

Il n'y a pas de saisonnalité pour les épidémies survenant en collectivités d'enfants ou d'adultes ou dans les restaurants ou suite à un banquet

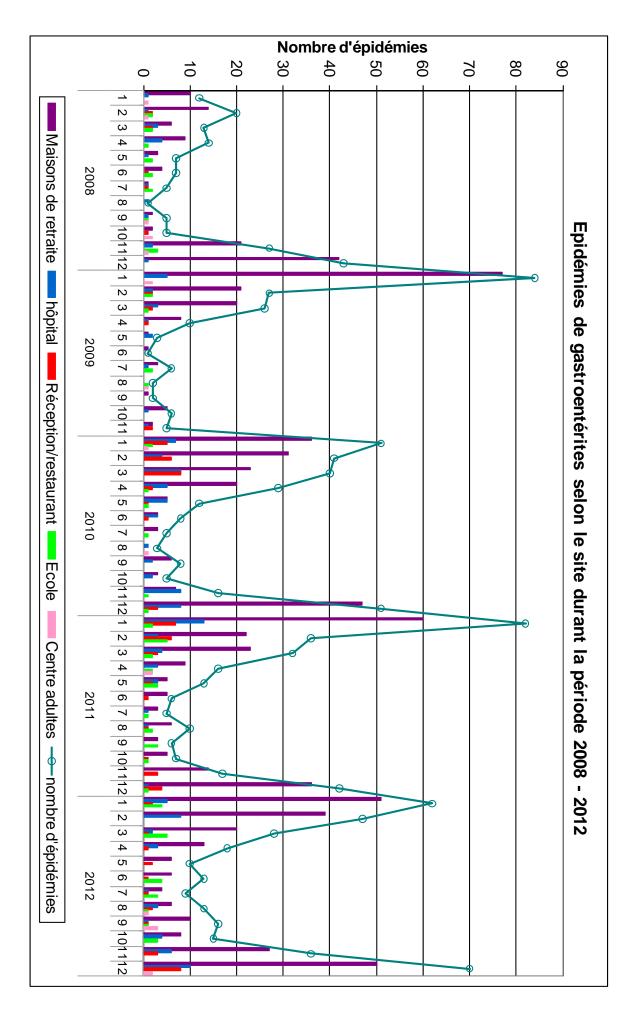
Risque élevé d'épidémie en établissement hébergeant des personnes âgées :

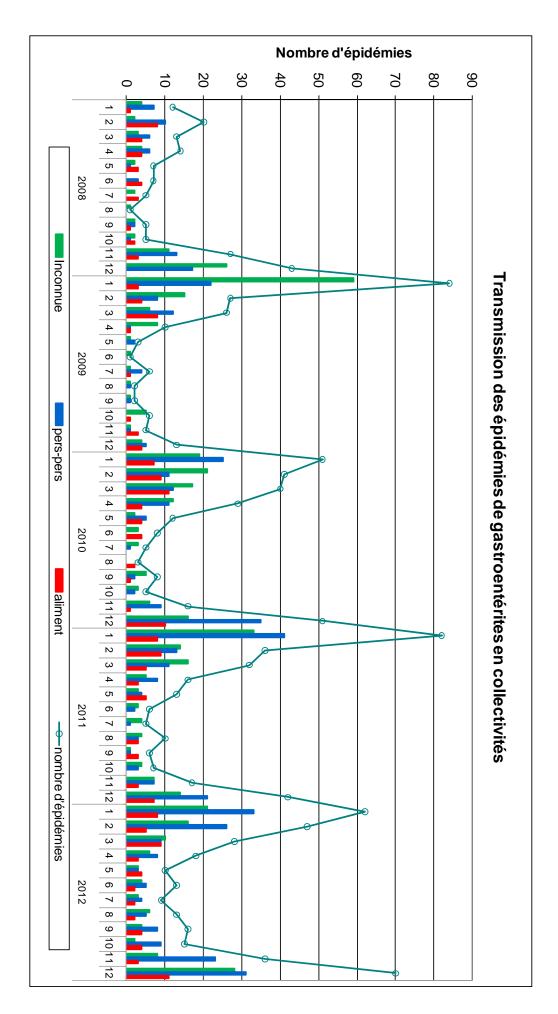
Nous avons suivi de façon prospective et sur trois années (2008 à 2011) 35 unités réparties dans 18 établissements pour personnes âgées (EHPA) de l'inter-région Nord-Est. Les résultats montrent que **15 établissements (83,3%) et 29 unités (82,8%) ont été touchés par au moins une épidémie durant ces trois années.** Ce chiffre global représente 20 unités (57,1%) en 2008-09, 10 (28,6%) en 2009-10 et 19 (54,3%) en 2010-11. Cette variabilité suit la fréquence des épidémies de gastro-entérites durant les hivers 2008 à 2011 enregistrée au CNR. Elle pourrait être liée à l'émergence de nouveaux variants.

Les figures 11 et 12 aux pages suivantes montrent l'évolution du nombre des épidémies de janvier 2008 à mars 2012. Cela représente 1222 épidémies dont 337 en 2012.

Figure 11 : Epidémies de gastro-entérites selon le site durant la période 2008 à 2012.

Figure 12 : Transmission des épidémies de gastro-entérites en collectivités.





3.2.3.2. Sites et modes de transmission (2008 à 2012)

Site ou établissement (figures 11 et 13): La grande majorité des 1222 épidémies recensées entre 2008 et 2012 est survenue dans des établissements pour personnes âgées ou maisons de retraites : 875 épidémies soit 71,6%. Les autres sites sont des services hospitaliers (158 épidémies : 12,9%), des réceptions ou banquets (93 épidémies : 7,6%), des écoles (73 épidémies : 6,0%) et 19 épidémies sont survenues dans des collectivités d'adultes.

Respectivement pour 2011 : 191 épidémies (71,5%), 29 (12,8%), 28 (6,5%), 22 (6,2%) et 2 épidémies.

Saisonnalité selon le site: Sur l'ensemble de cette surveillance nous avons noté une différence entre les épidémies survenant en établissements pour personnes âgées ou d'hospitalisation et les collectivités pour enfants ou adultes et les restaurants. Pour les premiers il existe une forte saisonnalité dans la survenue des épidémies que l'on ne retrouve pour les seconds (figure 10).

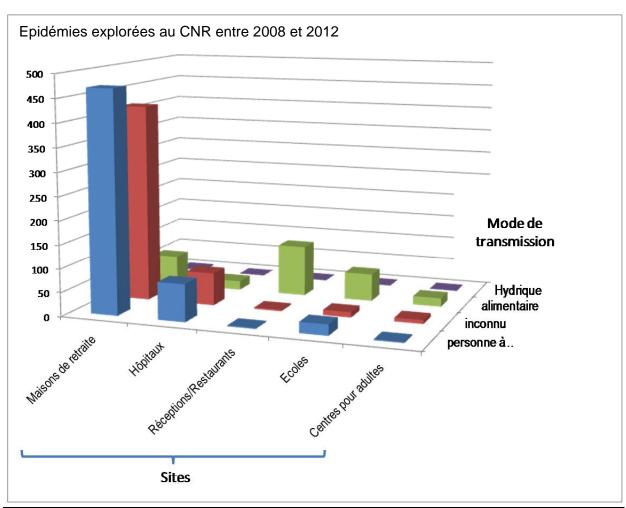
Mode de transmission (figures 12 et 13): Durant cette période 2008-2011, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour 488 épidémies (39,9%). Le mode de transmission de personne à personne est incriminé dans 515 épidémies (42,1%). Une origine alimentaire était à l'origine de 214 épidémies (17,1%) et une origine hydrique a été trouvée pour 13 épidémies (1,1%).

Respectivement pour 2012: Origine inconnue pour 111 épidémies (32,9%), personne à personne pour 164 (48,7%), alimentaire pour 57 (16,9%), et 5 épidémies d'origine hydrique.

Pour la quasi-totalité des épidémies provenant de maisons de retraite ou des services hospitaliers le mode de transmission est de personne-à-personne (environ 42%) ou non connu (environ 40%). L'origine alimentaire est toutefois retrouvée dans environ 7,0% des épidémies survenant en maison de retraite ou en services hospitaliers (figure 13 et tableau 5).

Comme attendu, une origine alimentaire est principalement trouvée dans les épidémies survenant lors d'une réception, dans les écoles et dans les centres pour adultes.

Les observations rapportée sur les années 2008 à 2011 n'est pas significativement différente de celles de l'année 2012 (tableau 6).



Année 2012	Mode de transmission							
	Pers-pers	inconnu	alimentaire	Hydrique	Total			
Maisons de retraite	131	93	15	2	241			
Hôpitaux	26	12	5	0	43			
Réceptions/Restaurants	1	1	20	0	22			
Ecoles	5	3	13	0	21			
Centres pour adultes	1	3	2	0	6			

Figure 13 et tableau 5 : Correspondance entre mode de transmission et site de survenue de l Ȏpidémie.

3.2.3.3. Virus en cause

Depuis janvier 2008 jusqu'à décembre 2012, 1222 épidémies ont été investiguées, pour 1021 d'entre elles un virus était retrouvé dans les selles parvenues au laboratoire (83,6%). Dans la très grande majorité des cas le virus en cause est un **norovirus** (942 épidémies soit 77,0% des épidémies positives) et pour 884 épidémies (72,3%) il était le seul virus détecté (figure 14). Parmi les norovirus, ceux du génogroupe II (907 souches) et plus particulièrement le génotype 4 (GII.4 : 729 souches), sont largement prédominants (figures 14 et 15).

Dans 79 épidémies (6,5%) nous avons retrouvé un autre virus responsable (rotavirus, astrovirus, virus Aichi, adénovirus ou sapovirus pour les principaux).

Aucun virus n'a été détecté pour 211 épidémies soit 17,3% de l'ensemble des épidémies traitées.

Ces données d'ensemble sont comparables à celles obtenues pour l'année 2012.

Les norovirus GII.4 sont de loin les plus fréquemment retrouvés lors des épidémies. Les norovirus GII.4 présentent une grande capacité évolutive. Depuis 2002 de nouveaux variants apparaissent régulièrement (figure 16). Sont d'abord apparus en 2006 les variants 2006a et 2006b qui ont co-circulé jusqu'à la fin 2007. A partir de 2008, le variant 2006b est devenu largement prédominant. Les variants 2008 et 2010, très proches pour ce qui concerne leur capside, ont remplacé le variant 2006b (figures 16). Depuis le début 2011 jusqu'à ars 2011 nous retrouvons quasi exclusivement le variant 2010.

→Le phénomène important de cette année 2012 est l'apparition dès l'automne 2012 d'un nouveau variant, dénommé variant 2012, qui a remplacé le variant précédent (figure 16).

Caractéristiques des épidémies dues aux norovirus GII.4 (figure 17):

<u>Mode de transmission</u>: Le mode de transmission de personne à personne des infections à norovirus GII.4 est plus fréquent que pour les autres génotypes. Au contraire, une source alimentaire est nettement moins fréquemment l'origine des épidémies à norovirus GII.4.

<u>Site de l'épidémie</u>: Les norovirus GII.4 sont plus fréquemment détectés dans les établissements hébergeant des personnes âgées (EHPA) que les autres génotypes.

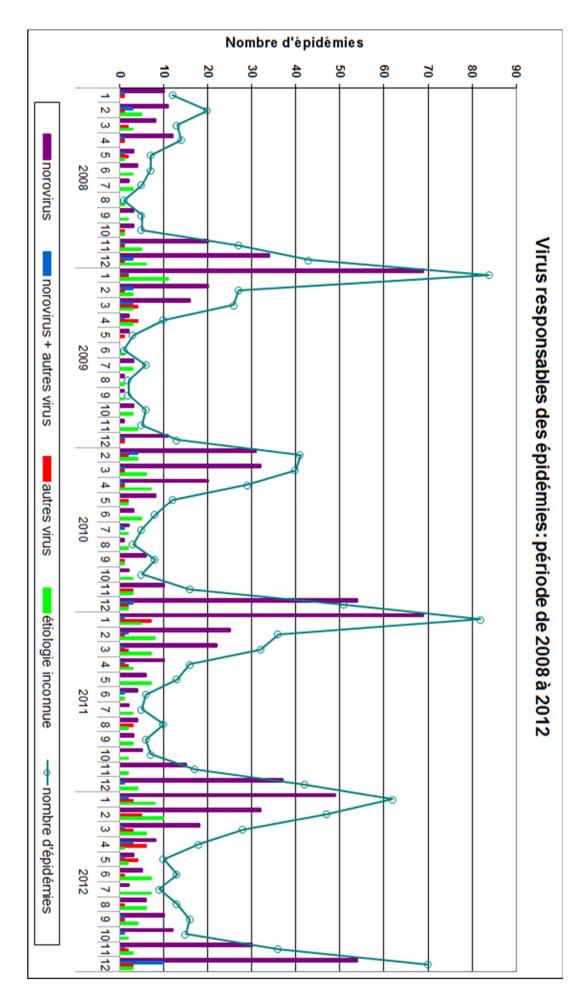
Les norovirus recombinants :

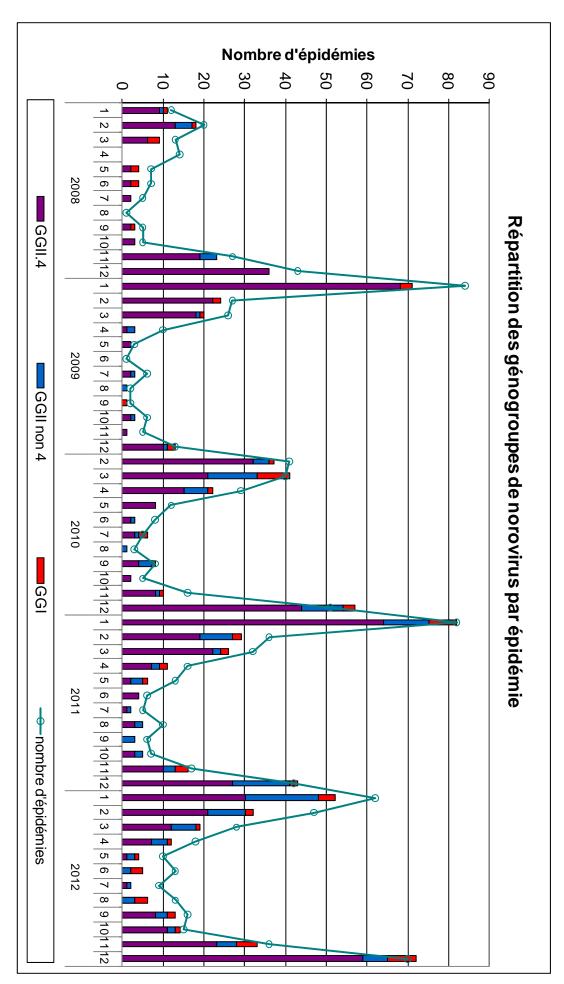
Les génotypes Glle/Gll.4 sont apparus pour la première fois en février 2011 (2 épidémies) mais de façon significative à partir de décembre 2011 (7 épidémies) et nous totalisons 12 épidémies entre janvier et mars 2012. Mais ce génotype recombinant – tout comme les autres génotypes recombinants - n'a pas été significativement retrouvé durant le deuxième semestre de l'année 2012.

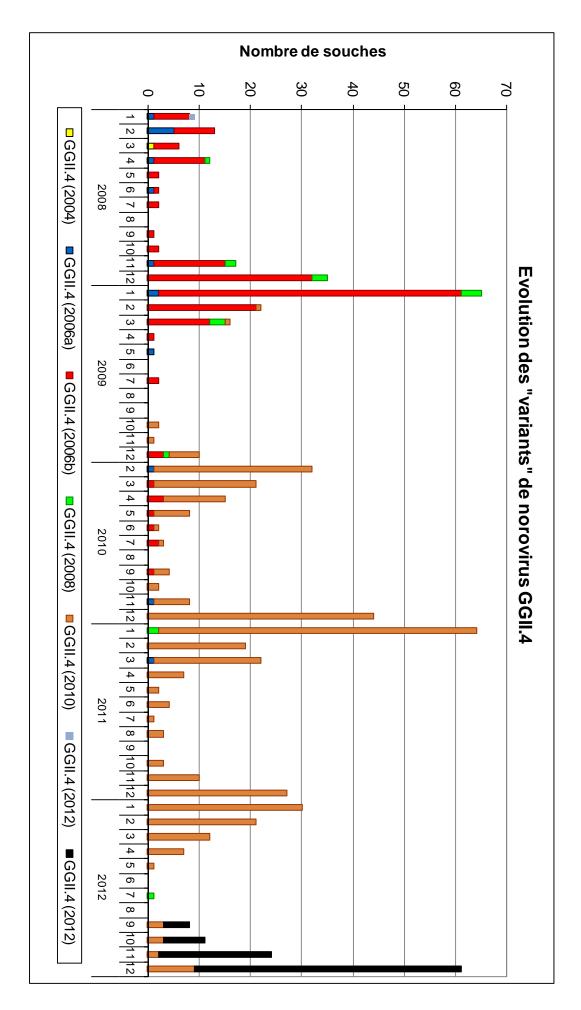
Figure 14 : Virus responsable des épidémies : période de 2008 à 2012.

Figure 15 : Répartition des génogroupes de norovirus par épidémie.

Figure 16: Evolution des « variants » de norovirus GII.4.







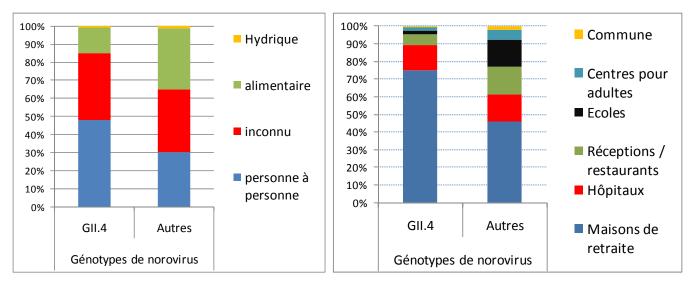


Figure 17: Caractéristiques des épidémies dues aux norovirus de génotype GII.4 comparées à celles dues aux autres génotypes. Le mode de transmission de personne à personne est plus fréquent pour les épidémies à norovirus GII.4. Au contraire, une origine alimentaire est nettement moins fréquente dans les épidémies dues au génotype GII.4 que pour celles dues aux autres génotypes (période 2008 à 2012)

.

3.3. CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX

3.3.1. Réseaux internationaux «FBVE-Net », « NoroNet » et « EuroRotanet »

Le réseau européen « FBVE-Net » regroupe les laboratoires qui participaient aux réseaux européens « DIVINE » et « EVENT » issus de financements de la Communauté Européenne. Nos partenaires français dans ce réseau sont l'InVS, l'IFREMER et le CNR des virus des hépatites A et E. Le réseau NoroNet est mondial et spécialisé sur les norovirus ; il regroupe plusieurs laboratoires européens, d'Amérique du Nord et du Sud, Asie et d'Océanie. Nos partenaires français sont l'InVS et l'IFREMER. Le CNR des virus entériques de Dijon fait partie de ces deux réseaux dès leur origine. Ces réseaux ont pour mission la surveillance et la caractérisation des virus responsables de gastroentérites, essentiellement les norovirus. Ils nous offrent l'accès à une base de données avec partage de celles-ci ; la possibilité d'une comparaison des souches de norovirus et d'une surveillance prospective des nouveaux variants. Ils sont pour nous des outils majeurs de la caractérisation des souches de norovirus détectées.

Le **réseau** « **EuroRotanet** » a pour mission la surveillance et la caractérisation des rotavirus responsables des gastroentérites chez les enfants. Le CNR des virus entériques de Dijon 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 virologique épidémiologique. C'est grâce à ce réseau que nous avons pu donner l'alerte de l'émergence d'un nouveau variant et anticiper sa détection (publication n° 10)

Outre notre participation aux recherches épidémiologiques dans un cadre européen, l'intégration de notre laboratoire dans ces réseaux nous donne l'accès aux contrôles externes de qualité (rotavirus et norovirus).

- 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, Copenhague (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: Instito 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 Le Guyader S), CNR hépatites A et E-APHP Paul Brousse (E. Dussaix), CNR virus entériques-CHU Dijon (Pr Pothier P).
- 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).

3.3.2. Collaborations « Egypte - Tunisie - Algérie - Maroc » (2006-2012)

Ces collaborations ont été soutenues par les **programmes CMCU et Hubert Curien** du Ministère des Affaires Etrangères et du Ministère de la Recherche. En 2012, elles ont concerné surtout la Tunisie et le Maroc.

Depuis 2008, nous avons formé des étudiants marocains, tunisiens et égyptiens aux techniques de diagnostic et de caractérisation moléculaire. Deux thèses d'Universitéont été soutenues.

En 2012, d'autres étudiantes tunisiennes en cours de thèse sont actuellement en stage dans notre laboratoire. Il s'agit de Madame Mouna HASSINE-ZAAFRANE et Madame Siwar AYOUNI.

Nous devons également accueillir un étudiant marocain durant l'année 2013.

Les populations de ces pays ont des liens très forts avec l'Europe. Les gastroentérites virales y sont très fréquentes avec pour conséquence la circulation d'une diversité de souches virales et le risque d'émergence de certaines d'entre elles. Ces collaborations ont donc pour objectif une surveillance de l'épidémiologie des virus entériques dans la population et dans l'environnement des pays du pourtour méditerranéen afin d'anticiper un risque de diffusion en Europe. Ces études nous ont également permis de mieux comprendre le rôle des virus « nouveaux » comme le virus Aichi dans les gastro-entérites.

3.3.3. Collaborations « Iran – Niger – Burkina Faso » (2010-2012)

Dès 2008 nous avions entrepris une collaboration avec un laboratoire iranien de l'Université de Téhéran. En 2009-2010, nous avons commencé une étude épidémiologique sur les virus entériques avec l'étudiante accueillie et son nouveau laboratoire d'accueil, le département de Biotechnologies du « RAZI Vaccine and Serum Research Institute » (responsable Dr Mirjalili A.). Les événements politiques ont retardé ce projet.

En 2012 (15 octobre-15 novembre) nous avons accueilli une biologiste post-doctorante, Farzaneh POURASGARY.

En 2010 nous avons accueilli un stagiaire nigérien et commencé une collaboration avec comme objectifs :

- 1) l'installation sur place d'un laboratoire capable de diagnostiquer et caractériser les rotavirus en vue de l'introduction de la vaccination par des ONG.
- 2) la réalisation d'une étude épidémiologique sur norovirus et virus Aichi.

En 2012 nous avons présenté nos travaux lors de plusieurs congrès scientifiques (communications internationales n° 1,2, 3 et 4) et une publication est actuellement soumise à un journal international (publication n°14). Le résultat important de cette étude au Niger est la mise en évidence de l'émergence des rotavirus de génotype G12

3.3.4. Collaboration avec le Réseau International des Instituts Pasteur

2010-2012: Nous participons au comité de suivi du programme « Infections entériques graves » organisé via l'Institut Pasteur et son Réseau International (responsables Sansonetti P et Victoir K). Notre objectif est d'implanter dans les Instituts Pasteur de Bangui (République Centrafricaine) et de Madagascar les techniques de diagnostic moléculaire des virus entériques -essentiellement rotavirus et norovirus - responsables de gastroentérites. L'objectif étant une analyse moléculaire et épidémiologique des virus entériques circulant dans ces pays.

3.3.5. Autres contributions de notre laboratoire dans la surveillance (2012)

- Participation à la surveillance des épidémies à l'échelle européenne. Etude de l'épidémiologie des virus responsables de gastroentérites et plus particulièrement les norovirus.
- Surveillance des rotavirus incluant Tahiti et l'Île de la Réunion. Mise en place d'un réseau « Outre-Mer ».
- Etude phylogénétique des norovirus et autres calicivirus, surveillance des nouvelles souches.
- Poursuite de l'étude de l'épidémiologie et de la pathogénicité des virus Aichi.
- Etude épidémiologique des virus animaux responsables de gastro-entérites avec risque de **transmission de l'animal à l'homme** (publications internationales n°2, 5 et 12.

3.4. CONCLUSION DES ACTIVITES D'EXPERTISE

• La sensibilité des trousses de diagnostic des norovirus par **immunochromatographie** est médiocre si l'on tient compte de l'ensemble des génotypes et moyenne pour le génotype GGII.4. Ces résultats ne nous permettent pas de recommander ce système de diagnostic pour un diagnostic individuel. Par contre la multiplication des analyses de selles dans le cas des épidémies pourrait pallier le **manque de sensibilité de ces tests** dont l'avantage est – pour certains - la simplicité d'utilisation, donc l'utilisation au sein même d'un établissement. Ces tests n'ont aucun intérêt dans le cas des épidémies d'origine alimentaire où l'on retrouve majoritairement d'autres génotypes du génogroupe I.

Un autre problème trouvé dans l'utilisation de ces tests est leur **moindre sensibilité pour la détection des nouvelles souches**. Ce phénomène qui demande à être mieux étudier pourrait être **lié à la dérive antigénique des norovirus de génotype GII.4**. S'il était confirmé, ce phénomène nécessiterait une surveillance régulière de la sensibilité de ces tests vis-à-vis des nouveaux génotypes circulant.

• Depuis la saison 2008-2009 nous recevons régulièrement les selles des patients lors des épidémies en institution ou non. Ce meilleur « recrutement » nous permet de mieux apprécier l'intensité des épidémies hivernales même si nous devons rester très prudent sur l'interprétation des résultats car notre recrutement ne correspond pas à une sélection randomisée.

Nous pouvons cependant confirmer nos précédentes conclusion :

Les norovirus sont la première cause des gastroentérites collectives analysées dans notre laboratoire. Dans la grande majorité des cas il s'agit de norovirus appartenant au génogroupe II et plus précisément au génotype 4 (GII.4). Souvent cette souche est responsable d'épidémies survenant en maison de retraite avec comme mode de contamination la transmission de personne à personne.

Le second point devant être souligné est la très **grande capacité évolutive des norovirus GII.4**. Le variant prédominant dès janvier 2008 était 2006b qui a persisté durant l'hiver 2008 - 2009. Pour les hivers 2009-2010 et 2010-2011, un nouveau variant (variant 2010) est apparu et a été responsable de la majorité des épidémies jusqu'au premier semestre 2012. **Les épidémies de la saison 2012-2013 que rapportent nos résultats du deuxième semestre 2012 sont dues à un nouveau variant dit variant 2012**. Ce variant 2012 avait déjà été décelé durant l'hiver précédent 2011-2012 ce qui nous avait permis d'alerter le réseau Noronet, comme d'ailleurs d'autres laboratoires australiens. Cette alerte avait été publiée dans le journal « Euro surveillance » (publication n°10).

4. ALERTE

4.1. CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC L'INVS

Un point hebdomadaire avec l'InVS est effectué le mardi par rendez-vous téléphonique. Le réseau sentinelle est associé à cette réunion téléphonique.

Nos contacts à l'InVS sont Madame Nathalie JOUDAN-DA SILVA et Monsieur Gilles DELMAS. Notre interlocuteur au réseau sentinelle est Monsieur Christophe ARENA.

4.2. PROCEDURES D'ALERTE DE L'INVS ET DES AUTRES PARTENAIRES

4.2.1. Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (par une ARS, un laboratoire...):

- ✓ Faxer au demandeur les 4 formulaires de la pochette « Épidémie : protocole et formulaires à faxer » (classeur « Formulaires ») ou les envoyer par e-mail (S:\CNR Virus Entériques\Modèles\Formulaires épidémie e-mail).
- ✓ Déterminer l'**identifiant de l'épidémie** (code à garder tout au long de l'épidémie) de la manière suivante :

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

- ✓ Entrer ces premières informations dans la base **Voozanoo** de l'InVS (https://voozanoo.invs.sante.fr)
 .
 - ♦ Vérifier s'il n'existe pas déjà une fiche enregistrée par l'InVS pour cette épidémie
 - ♦ Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à l'InVS, créer une nouvelle fiche

3.1.1. Annonce d'une épidémie via la base Voozanoo de l'InVS :

✓ Attendre la **réception éventuelle** des prélèvements, accompagnés des formulaires épidémiologiques qui auront été fournis par l'InVS.

3.1.2. 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, envoyer au prescripteur, par fax ou par mail, le formulaire n° 2 (fiche globale) pour avoir des renseignements sur l'épidémie.

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

4.3. DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

4.3.1. Transmission des données a l'InVS

Voozanoo (https://voozanoo.invs.sante.fr):

Voozanoo est une base de données partagée entre l'InVS et le CNR, qui permet un échange en temps réel des informations épidémiologiques et moléculaires sur les épidémies de gastroentérites annoncées et/ou traitées (voir paragraphe 3.2.1. Procédure de traitement d'une épidémie).

1.1. Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo

Annonce d'une épidémie au CNR directement par un laboratoire, une ARS ...

- ◆ Vérifier s'il n'existe pas déjà une fiche enregistrée dans la base Voozanoo par l'InVS pour cette épidémie
- ◆ Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à l'InVS, créer une nouvelle fiche pour entrer les premières informations

Annonce d'une épidémie via la base Voozanoo :

 Noter les données enregistrées par l'InVS sur une feuille Premières informations (classeur « Formulaires ») à ranger dans la chemise violette du casier « Épidémies en attente » en précisant qu'il s'agit d'une annonce InVS.

1.2. Rendu des résultats à l'InVS

Les résultats préliminaires et définitifs sont entrés dans la base Voozanoo de l'InVS.

Parallèlement, les résultats définitifs sont entrés dans le système informatique des analyses de laboratoire du CHU de Dijon (LAB400) pour archivage ; ce système informatique est protégé par un accès sécurisé.

4.3.2. Anonymisation des prélèvements

Enregistrement des prélèvements reçus au CNR

 Repérer sur la coprothèque (classeur jaune, onglet : Externes) 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\Coprothèques\COPROTHÈQUE Externes).

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 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 en cours n°15, la chemise n°3 dans ce carton)
- ♦ les numéros des échantillons correspondants (E.... à E....)

4.4. PROCEDURES DE TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS DES CAS GROUPE DE GEA

4.4.1. Procédures de traitement d'une épidémie.

TRAITEMENT D'UNE EPIDEMIE DE GEA OU D'UNE TIAC

AVIS D'EPIDEMIE DE GEA ou TIAC

- □ Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (par ARS, un laboratoire...):
 - ✓ Faxer au demandeur les 4 formulaires de la pochette « Épidémie : protocole et formulaires à faxer » (classeur « Formulaires ») ou les envoyer par e-mail (S:\CNR Virus Entériques\Modèles\Formulaires épidémie e-mail).
 - ✓ Déterminer l'identifiant de l'épidémie (code à garder tout au long de l'épidémie) de la manière suivante :

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

✓ Dans la liste « Épidémies annoncées/reçues » (chemise violette, casier « Épidémies en attente ») : vérifier s'il n'existe pas le même identifiant ou si l'épidémie n'a pas déjà été annoncée ; compléter la liste.

Remarque: - s'il y a déjà eu une épidémie dans la même ville, le même mois, ajouter un numéro d'ordre (Exemple: 44BA0306/2)

- de même, en cas d'ambiguïté sur l'identifiant de l'épidémie (Exple : épidémie à Batz-surmer également en mars 2006 : 44BA0306/2)
- ✓ Compléter une feuille **Premières informations** (classeur « Formulaires ») à ranger dans la chemise violette du casier « Épidémies en attente ».
- ✓ Entrer ces premières informations dans la base Voozanoo de l'InVS (https://voozanoo.invs.sante.fr)
 - ♦ Vérifier s'il n'existe pas déjà une fiche enregistrée par l'InVS pour cette épidémie
 - ♦ Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à l'InVS, créer une nouvelle fiche

□ Annonce d'une épidémie via la base Voozanoo de l'InVS :

- ✓ Noter les données enregistrées par l'InVS sur une feuille Premières informations (classeur « Formulaires ») à ranger dans la chemise violette du casier « Épidémies en attente » en précisant qu'il s'agit d'une annonce InVS.
- ✓ Compléter la liste **Épidémies annoncées/reçues** » (chemise violette, casier « Épidémies en attente ») en précisant également « annonce InVS ».
- ✓ Attendre la **réception éventuelle** des prélèvements, accompagnés des formulaires épidémiologiques qui auront été fournis par l'InVS.

□ 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, envoyer au prescripteur, par fax ou par mail, le formulaire n° 2 (fiche globale) pour avoir des renseignements sur l'épidémie.

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

RECEPTION DES PRELEVEMENTS

- □ Conserver les échantillons : à 4°C (traitement dans les 48h) ou à 20°C.
- □ Enregistrer les prélèvements :

- ✓ Repérer sur la **coprothèque** (classeur jaune, onglet : **externes**) 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** (S:\CNR Virus Entériques\Coprothèques\COPROTHÈQUE Externes).
- ✓ Enregistrer les prélèvements dans LAB 400 :
 - ♦ Entrer en numéro de séjour le numéro « 011731380 » correspondant au « patient CNR » pour tous les échantillons et préciser dans l'interface « Commentaire » le nom, le prénom et la date de naissance de chacun des patients.
 - Pour une épidémie personne à personne ou alimentaire (hors coquillage), enregistrer en première intention :
 - Code 30990 : RT-PCR norovirus temps réel
 - ♦ Pour une épidémie liée à l'eau ou aux coquillages, enregistrer les codes d'analyses suivants :
 - Code 30995 : Seeplex (PCR adénovirus, RT-PCR astrovirus, rotavirus et norovirus G1/G2)
 - Code 30942 : RT-PCR Hépatite A
 - Code **30944** : RT-PCR Entérovirus
 - Code **30958**: RT-PCR Aichivirus
 - Code 30975 : RT-PCR Sapovirus
 - ◆ Une fois chaque patient enregistré, imprimer la liste de travail qui permettra de répertorier les résultats des différentes manips.
- ✓ Compléter la liste des épidémies (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Liste épidémies)
- □ Mettre toutes les données dans une chemise identifiée par :
 - ♦ le **nom de la ville** qui a inspiré le numéro d'identifiant
 - ♦ l'identifiant épidémie correspondant
 - ♦ le numéro du carton suivi du numéro de la chemise (Exple : 15.03 correspond au carton en cours n°15, la chemise n°3 dans ce carton)
 - ♦ les **numéros des échantillons** correspondants (E.... à E....)

Remarque: Joindre à la chemise le formulaire « Premières informations » et un exemplaire du formulaire « Récapitulatif rendu des résultats ».

ANALYSES

□ Extraction des acides nucléiques :

- ✓ manuellement, avec QIA Amp viral RNA, Qiagen
- ✓ OU automatiquement sur EasyMag
- ✓ OU automatiquement sur Bionobis

□ Épidémie personne à personne ou alimentaire (hors coquillage) :

- ✓ Recherche de Norovirus par temps réel :
 - ♦ Génogroupe 1 (amorces : JJV1NF/JJV1R, sondes : JJV1P et RING-1B)
 - ◆ Génogroupe 2 (amorces : QNIF2d/Cog2R, sonde : QNIF2)
- ✓ Si l'épidémie est positive en temps réel, PCR classique One Step :
 - ♦ Polymérase (amorces JV12/JV13)
 - ◆ Capside (amorces GISKF/GISKR et/ou GIISKF/GIISKR)
- ✓ Si l'épidémie est négative en temps réel :
 - ♦ Recherche de sapovirus (amorces SR80/NVP110)
 - ♦ Recherche immuno-enzymologie :
 - Adénovirus 40-41 (Elisa Meridian)

- Astrovirus (Elisa Oxoïd)
- Rotavirus du groupe A (Elisa Méridian)
- ◆ Si Elisa positif(s):
 - Rotavirus du goupe A (RT-PCR)
 - Astrovirus (RT-PCR Mon244/Mon245 et si nécessaire Mon269/Mon270)
 - Adénovirus (PCR Adv-hex1deg/hex2deg)

Remarque: Les kits ELISA sont stockés à + 4°C dans le frigo en pièce post-PCR (1-114) et les kits neufs dans la chambre froide à +4°C au sous-sol. Les tampons de dilution des selles, qui sont utilisés en pièce d'extraction (1-120A), ne doivent en aucun cas transiter par le secteur post-PCR. Il ne faut donc pas oublier de sortir des kits neufs avant que ceux-ci soient stockés en post-PCR. Les tampons sont, eux, stockés dans la pièce d'extraction (1-120A).

□ Épidémie liée à l'eau ou aux coquillages :

- ✓ Recherche de norovirus, adénovirus, astrovirus et rotavirus du groupe A par **PCR Seeplex**. Si la PCR Seeplex est positive pour un ou plusieurs virus réaliser :
 - Norovirus en One Step: polymérase (amorces JV12/JV13) et capside (amorces GISKF/GISKR et/ou GIISKF/GIISKR)
 - ♦ Adénovirus (PCR Adv-hex1deg/hex2deg)
 - ♦ Astrovirus (RT-PCR Mon244/Mon245 et si nécessaire Mon269/Mon270)
 - Rotavirus du goupe A (nouvelle technique)
- ✓ Recherche de sapovirus dans la polymérase (amorces SR80/NVP110)
- ✓ Recherche des entérovirus (amorces E1-E2)
- ✓ Recherche du virus Aichi : polymérase (amorces Al6261/Al6779)
- ✓ Recherche de l'hépatite A (amorces HAV1-HAV2)

□ Typage par séquençage des produits de PCR :

- ✓ Purification des produits de PCR positifs
- ✓ Quantification
- ✓ Séquençage

<u>Important</u>: Penser à copier les manips sur le cahier EXTERNE et à synthétiser les RÉSULTATS sur la liste de travail à la fin de chaque manip.

RENDU DES RESULTATS

□ Rendre les résultats préliminaires :

- ✓ par téléphone au(x) prescripteur(x) avant l'envoi définitif par courrier
- ✓ dans la base **Voozanoo** de l'InVS : https://voozanoo.invs.sante.fr

□ Rendre les résultats définitifs dans LAB 400 :

- ✓ Ajouter, si nécessaire, les codes correspondants aux analyses complémentaires effectuées
- ✓ Entrer, pour chaque analyse, le résultat : n+ = négatif OU p+ = positif

<u>ATTENTION</u>: Les compte-rendus d'épidémie ne sont pas à sortir via LAB 400 ; cependant le logiciel garde les résultats en mémoire. Pour qu'ils ne soient pas imprimés, utiliser la **procédure d'édition n°466** mais annuler directement la tâche sur l'imprimante (VIROLOIL08).

□ <u>Créer un dossier au nom de l'épidémie sur le serveur (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\CR épidémies\dossier n°...) comprenant</u> :

- ✓ Un compte rendu (à imprimer en plusieurs exemplaires) pour :
 - ♦ la chemise de l'épidémie
 - ♦ P. Pothier
 - ♦ la ARS (ou CIRE)
 - ♦ le laboratoire expéditeur
 - ♦ le(s) prescripteur(s)

- ✓ Un tableau récapitulatif de l'épidémie (à imprimer en 3 exemplaires) pour :
 - ♦ la chemise de l'épidémie
 - ♦ P. Pothier
 - le classeur Fiches épidémies

□ Pour les calicivirus séquencés :

- ♦ Compléter l'alignement des souches en fonction du génotype (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Alignement séquences)
- ♦ Entrer le numéro des échantillons séquencés dans les **tableaux norovirus** et/ou **sapovirus** (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Liste des échantillons par virus)

□ Entrer les données épidémiologiques et moléculaires (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats):

- ◆ Dans la base Voozanoo de l'InVS (https://voozanoo.invs.sante.fr)
 <u>Rem</u>: Pour les épidémies annoncées mais non reçues, ne pas oublier d'entrer aussi les données
- Dans le dossier « Banques de données », tableau « Bq données Externes »
- ◆ Dans le dossier « Récapitulatifs ext et hosp», tableaux « Récapitulatif échantillons Externes » et « Récapitulatif Épidémies »
- ♦ Dans le dossier « Liste des échantillons par virus » (hors calicivirus)
- ◆ Dans le dossier « CNR Entérovirus Lyon », « Tableau récapitulatif mensuel 200 »
- Sur le site du réseau européen FBVE (http://secure.rivm.nl/mpf/norovirus/database)

ECHANTILLON HOSPITALISE OU EXTERNE HORS CONTEXTE EPIDEMIQUE (CAS SPORADIQUE)

RECEPTION DU PRELEVEMENT

- □ <u>Noter la date de réception</u> du ou des prélèvements sur le(s) papier(s) joint(s) (formulaire du CNR, prescription, feuille de laboratoire...)
- □ Conserver les échantillons : à 4°C (traitement dans les 48h) ou à 20°C.
- □ Enregistrer le prélèvement :
 - ✓ Dans la **coprothèque** (classeur jaune, onglet : hospitalisés ou externes), enregistrer l'échantillon face au numéro en fin de liste (commencer par **H**...ou **E**...) puis sauvegarder sur le **serveur** (S:\CNR Virus Entériques\Coprothèques\COPROTHÈQUE Hospitalisés ou COPROTHÈQUE Externes).
 - ✓ Enregistrer le patient dans LAB 400 :
 - ♦ Enregistrer le nom, le prénom, la date de naissance, la date de prélèvement
 - Enregistrer les examens demandés
 - ♦ Imprimer la liste de travail ; la glisser dans une pochette plastique avec les papiers accompagnant le prélèvement et la déposer dans la pochette « cas sporadiques et hospitalisés », casier « en cours d'analyse ».

ANALYSES

- □ Réaliser les analyses selon la demande
- □ Dans certains cas particuliers (exple : les hospitalisés en néonat sans prescription et les patients hospitalisés à Necker), faire toute la batterie virale par PCR :
- ◆ Code **30939** (Seeplex, bocavirus, coronavirus, CMV, entérovirus, paréchovirus, sapovirus et virus Aichi)
 - ♦ Et éventuellement le code 30942 (hépatite A)

Remarque : Penser à copier les manips sur le cahier EXTERNE.

Synthétiser les résultats sur la liste de travail à la fin de chaque manip.

RENDU DES RESULTATS

- □ Rendre les résultats dans LAB 400 :
 - √ n+ = négatif , p+ = positif
- □ Pour les Hospitalisés :
 - ✓ Imprimer un **compte-rendu dans LAB 400** en « Edition des comptes rendus » (n°8) puis « Edition par numéro » (n°2).
 - ✓ Faire signer le compte-rendu et en faire une copie. Envoyer l'original au prescripteur par **courrier** interne (casier « **courrier** », pièce de sérologie PB-1087). Ranger la photocopie avec la feuille de travail dans la pochette plastique et l'archiver dans le **classeur bleu** « **Hospitalisés** ».
 - ✓ Pour les calicivirus séquencés : compléter l'alignement des souches en fonction du génotype (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Alignement séquences) et entrer le numéro des échantillons dans les tableaux norovirus et/ou sapovirus (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Liste des échantillons par virus).

- ✓ Entrer les données épidémiologiques et moléculaires (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats) :
 - ♦ Dans le dossier « Banques de données », tableau « Bq données Hospitalisés »
 - ◆ Dans le dossier « CNR Entérovirus Lyon », « Tableau récapitulatif mensuel 200_ »
 - ♦ Dans le dossier « Liste des échantillons par virus »
 - ◆ Dans le dossier « Récapitulatifs ext et hosp», tableau « Récapitulatif Hospitalisés »

□ Pour les Externes :

- ✓ Faire un compte-rendu dans le dossier « CR Cas sporadiques » de l'année en cours (S:\CNR Virus Entériques\Rendu résultats\CR Cas sporadiques\Externes\Externes 200_) puis l'imprimer sur papier à en-tête du CHU.
- ✓ Faire signer le compte-rendu et en faire une copie. Envoyer l'original au **prescripteur** sous enveloppe. Ranger la photocopie avec la feuille de travail dans la pochette plastique et l'archiver dans le **classeur jaune** « **Cas sporadiques** ».
- ✓ Pour les calicivirus séquencés : compléter l'alignement des souches en fonction du génotype (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Alignement séquences) et entrer le numéro des échantillons dans les tableaux norovirus et/ou sapovirus (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Liste des échantillons par virus).
- ✓ Entrer les **données épidémiologiques et moléculaires** (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats) :
 - ♦ Dans le dossier « Banques de données », tableau « Bq données Externes »
 - ♦ Dans le dossier « CNR Entérovirus Lyon », « Tableau récapitulatif mensuel 200_ »
 - ♦ Dans le dossier « Liste des échantillons par virus »
 - ♦ Dans le dossier « Récapitulatifs ext et hosp », tableau «Récapitulatif échantillons Externes»

4.4.2. Protocoles d'envoi d'échantillons de selles et formulaires.

Renseignements disponibles sur le site : <a href="http://www.chu-dijon.fr/page.php?url=directory/centre-national-de-reference-des-virus-enteriques/traitement-national-de-reference-de-referenc des-prelevements

Site accessible par moteurs de recherche avec la dénomination suivante « CNR virus entériques »



Centre National de Référence des Virus Entériques

CHU, Plateau Technique de Biologie 2, Rue Angélique Ducoudray, BP 37013, 21070 Dijon Tél: 03-80-29-34-37 - Fax: 03-80-29-32-80 cnr@chu-dijon.fr

PROTOCOLE D'ENVOI D'ÉCHANTILLONS DE SELLES POUR INVESTIGATION D'UNE ÉPIDÉMIE DE GASTRO-ENTÉRITES

Recueil des échantillons :

- Pour l'investigation d'une épidémie de gastro-entérites, un minimum de **3 à 5 échantillons** est recommandé (un échantillon par patient).
- Chaque échantillon doit être recueilli dans un flacon type flacon à coproculture.
- Les prélèvements sont à conserver à +4°C (pour un envoi sous 48h) ou à −20°C (pour un envoi différé).
- Les prélèvements doivent être accompagnés des formulaires n°1 (demande d'investigation), n°2 et n°3 (renseignements épidémiologiques) ci-joints.

Réalisation du colis :

- Les prélèvements doivent être envoyés dans un triple emballage conforme à la réglementation en vigueur pour le transport des échantillons cliniques (arrêté ADR¹):
 - Déposer les flacons (récipients primaires), entourés de papier absorbant, dans un sachet plastique ou une boîte rigide (plastique, métallique...) à fermeture hermétique (emballage secondaire), puis dans une boîte en carton ou polystyrène (emballage extérieur), avec interposition de matières de rembourrage appropriées.
 - ✓ Apposer sur la surface extérieure du colis la désignation « Matière Biologique, catégorie B » près de la mention UN 3373 en forme de losange.



Conditions d'envoi:

- Le colis est à envoyer à température ambiante (max. 25°C) ou réfrigéré (max. 4°C) dans un délai rapide (48-72h) par voie postale ou par transporteur agréé.
- Pour éviter les délais d'acheminement trop longs, il est souhaitable d'effectuer l'envoi en début ou en milieu de semaine (laboratoire ouvert tous les jours sauf le dimanche).
- Expédier le colis à l'adresse suivante : Centre National de Référence des Virus Entériques

Laboratoire de virologie

CHU - Plateau Technique de Biologie

2, rue Angélique Ducoudray

BP 37013

21070 DIJON CEDEX

48

¹ Arrêté du 5 décembre 2002 modifiant l'arrêté du 1^{er} juin 2001 relatif au transport des matières infectieuses : instructions ADR P650 (par route) ou IATA 650 (par air).



Centre National de Référence des Virus Entériques

CHU, Plateau Technique de Biologie 2, Rue Angélique Ducoudray, BP 37013, 21070 Dijon Tél: 03-80-29-34-37 - Fax: 03-80-29-32-80 <u>cnr@chu-dijon.fr</u>

DEMANDE D'INVESTIGATION D'UNE EPIDEMIE DE GASTRO-ENTERITES FORMULAIRE N°1

	Expéditeur du colis (pour le rendu de résultats) :
	□ Nom
	 Institution
	□ Adresse
	□ Téléphone
	Médecin demandant l'investigation (pour le rendu de résultats):
	□ Nom
	Institution
	□ Adresse
	□ Téléphone
	Étiquette à découper et à coller sur le colis :
No	ombre d'échantillons envoyés :

Préciser l'identité et la date de naissance des patients ainsi que la date de prélèvement sur les pots à coproculture.





Centre National de Référence des Virus Entériques

CHU, Plateau Technique de Biologie 2, Rue Angélique Ducoudray, BP 37013, 21070 Dijon Tél : 03-80-29-34-37 - Fax : 03-80-29-32-80 cnr@chu-dijon.fr

RENSEIGNEMENTS EPIDEMIOLOGIQUES FORMULAIRE N°2 – FICHE GLOBALE

Référent (nom, qualité) :

Caractéristiques de l'épidémie

□ Lieu (Hôpital, maison de retraite, école, restaurant, domicile):			
□ Date d'apparition des signes : - pour le premier cas :/			
- pour le dernier cas :/			
□ Date de fin d'épidémie :/			
□ Nombre de cas :			
Dont nombre de patients hospitalisés suite à l'épidémie :			
Dont nombre de patients décédés suite à l'épidémie :			
□ Nombre de personnes exposées :			
□ Nombre de cas dans les groupes d'âges suivants :			
0-4 ans : 15-64 ans : >65 ans :			
□ Mode de transmission suspecté :			
 □ Personne à personne □ Coquillage □ Hydrique □ Alimentaire puis personne à personne □ Inconnu 			
Si alimentaire, préciser : - date du repas :/			
□ Durées moyennes : - de l'incubation : des signes :			
□ Signes cliniques : - Nombre de cas avec : - vomissements uniquement : - diarrhées uniquement : - diarrhées et vomissements :			
Autres signes cliniques:			
□ Analyses microbiologiques (bactériologie & parasitologie) réalisées : oui □ non □			
Si oui, préciser : - nombre de patients:			
- résultats:			



Centre National de Référence des Virus Entériques

CHU, Plateau Technique de Biologie 2, Rue Angélique Ducoudray, BP 37013, 21070 Dijon Tél : 03-80-29-34-37 - Fax : 03-80-29-32-80 cnr@chu-dijon.fr

RENSEIGNEMENTS EPIDEMIOLOGIQUES FORMULAIRE N°3 – FICHE INDIVIDUELLE

	Nom:
	Prénom :
	Date de naissance :
	Sexe:
	Date du prélèvement :
	Signes cliniques* :
	Vomissements Diarrhée Fièvre Nausées Douleurs abdominales Autres (à préciser) :
	Durée des signes cliniques : du au
	Evolution des signes* : Guérison ☐ Hospitalisation ☐ Autres ☐
	Résultats des analyses microbiologiques (bactériologie et parasitologie) :
*Co	ocher les cases concernées

5. ACTIVITE D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL

5.1. PARTICIPATION AUX COMMISSIONS SPECIALISEES ET ACTIVITES D'EXPERTISE

Un point hebdomadaire avec l'InVS est effectué le mardi par rendez-vous téléphonique. Le réseau sentinelle est associé à cette réunion téléphonique.

Nos contacts à l'InVS sont Madame Nathalie JOUDAN-DA SILVA et Monsieur Gilles DELMAS. Notre interlocuteur au réseau sentinelle est Monsieur Christophe ARENA.

Haut Conseil de Santé Public (2012 - 2013)

Sous la responsabilité du HSCP, un groupe de travail sur la vaccination rotavirus a été mis en place dès octobre 2012 afin de proposer ou non la recommandation de la vaccination. Le responsable du CNR est membre de ce groupe de travail.

5.2. ACTIVITES DE CONSEIL

- Aides à d'autres laboratoires (transmission de souches de référence, soutien technique ou autre):
 - o Divers laboratoires d'analyses Médicales.
 - o Divers services de longs séjours, services hospitaliers.
- Conseils téléphoniques destinés à des collègues biologistes, médecins hygiénistes, médecins épidémiologistes (ARS, CIRE), médecins cliniciens.
- Suivi des patients immunodéprimés.

5.3. ENCADREMENT DE STAGIAIRES

- Encadrement d'étudiants en Médecine et Pharmacie, de stagiaires de l'IUT.
- 2009 2012 : Encadrement d'une stagiaire tunisienne en thèse en cotutelle (Madame Mouna HASSINE-ZAAFRANE)
- Depuis 2010, encadrement d'une étudiante tunisienne en thèse en cotutelle (Madame Siwar AYOUNI)
- **Depuis 2010**: Conseil au laboratoire CERMES (Niamey, Niger) depuis l'accueil du stagiaire nigérien (**2010**), Monsieur Lagare ADAMOU. Accord avec l'association à but non lucratif « Epicentre » (Paris).
- **2011-2012**: nous avons accueilli du 1^{er} octobre au 30 décembre 2011un étudiant du **Burkina Faso**, Monsieur Joseph MAKAYA MAKUMBU. Depuis, nous suivons son travail de thèse et conseillons son laboratoire.

6. TRAVAUX DE RECHERCHE EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR

6.1. RECHERCHES APPLIQUEES

- Evaluation des réactifs de diagnostic (publication n° 7)
- Développement de réactifs de diagnostic par immunochromatographie et PCR temps réel. Travail en collaboration avec les industriels.
- Evaluation des procédés virucides (publications n°6 et 8)

Le CNR a été impliqué dans des projets de l'Agence Nationale de la Recherche (programme SPICECLEAN). Ces travaux ont permis d'approfondir nos connaissances sur la survie des norovirus dans leur environnement. Le norovirus murin ou MNV a été utilisé comme substitut des norovirus humains. On a pu étudier les effets de l'humidité, de l'activité de l'eau et de la température sur le pouvoir infectieux des norovirus. En couplant l'utilisation du MNV et de différentes VLPs (Like Viral Particles) nous avons pu déterminer les conditions de survie du norovirus dans l'environnement et les mécanismes de sa dégradation sous l'effet des éléments extérieurs (une publication est en cours de rédaction).

6.2. RECHERCHES EPIDEMIOLOGIQUES

6.2.1. Epidémiologie moléculaire des autres virus entériques

Nos résultats ont été présentés dans les chapitres précédents. Ils ont également fait l'objet des publications n° 1, 2, 4, 5, 9, 12, 14 et 15.

Cette partie de nos travaux concerne des études épidémiologiques à partir de nos résultats de surveillance en France ou en Europe en collaboration avec nos collègues des réseaux européens (publications 1, 2, et 10) et dans les pays du continent Africain (publications n° 5, 9, et 14).

6.2.2. Diarrhées chroniques chez les immunodéprimés

Nos résultats sont présentés dans les chapitres 2.2.3.2 pages 12 et 13 (publication n° 13). Ce travail sera poursuivi dans les années à venir.

6.2.3. Caractérisation des virus entériques animaux, épidémiologie moléculaire

Nous avons poursuivi nos travaux sur l'épidémiologie des virus entériques chez les animaux afin de mieux définir le risque de transmission à l'homme de ces virus (publication n° 13). De même, nous avons cherché et caractérisé dans les selles animales de nouveaux virus. Nos résultats ont principalement porté sur les *Nebovirus* (publication n° 8).

Ces travaux se poursuivront durant les années à venir.

6.3. INTERACTIONS NOROVIRUS-RECEPTEUR

 Les recherches sur les interactions les norovirus avec leur cellule hôte se poursuivent.
 Les résultats ont d'ores et déjà permis d'avancer dans la compréhension des mécanismes de l'attachement des norovirus à la surface des cellules intestinales et de la reconnaissance d'un des récepteurs.

6.4. MECANISMES DE LA REPONSE IMMUNE AU NIVEAU DIGESTIF

Nous avons analysé la distribution tissulaire et les propriétés d'adressage (« homing ») des cellules secrétant des immunoglobulines de type A (*IgA antibody-secreting cells*, IgA ASC) induites par immunisation intra-rectale (i.r.), en comparaison avec celles induites par d'autres 53

voies d'immunisation muqueuse. Nous avons montré que les mécanismes responsables de la migration de ces cellules vers les tissus cibles étaient différents selon la voie d'immunisation. Ce résultat a été dénommé « GPS for the Gut » par l'éditorialiste de Journal of Immunology. Ces résultats sont présentés dans la publication n° 11)

7. PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

7.1. PUBLICATIONS NATIONALES

1. Lorrot M, <u>De Rougemont A</u>, Mariani P, <u>Kaplon J, Pothier P</u>. Épidémiologie des infections a rotavirus en France et dans le monde : évolution des génotypes. *Med Ther Pediatr. Sous presse*

7.2. PUBLICATIONS INTERNATIONALES (2012)

- 1. Verhoef L, Williams KP, Kroneman A, Sobral B, van Pelt W, Koopmans M; FBVE network. Selection of a phylogenetically informative region of the norovirus genome for outbreak linkage. Virus Genes; 2012; 44: 8-18. (participation à un réseau européen/ participation in a European network)
- 2. Midgley SE, Bányai K, Buesa J, Halaihel N, Hjulsager CK, Jakab F, <u>Kaplon J</u>, Larsen LE, Monini M, Poljšak-Prijatelj M, <u>Pothier P</u>, Ruggeri FM, Steyer A, Koopmans M, Böttiger B. Diversity and zoonotic potential of rotaviruses in swine and cattle across Europe. **Vet Microbiol**. 2012; 156: 238-245.
- 3. Darniot M, Schildgen V, Schildgen O, Sproat B, Kleines M, Ditt V, Pitoiset C, <u>Pothier P</u>, Manoha C. RNA interference in vitro and in vivo using DsiRNA targeting the nucleocapsid N mRNA of human metapneumovirus. **Antiviral Res**. 2012; 93: 364-373.
- 4. Thouillot F, Delhostal C, Edel C, Bettinger A, <u>Pothier P</u>, <u>Ambert-Balay K</u>, Meffre C, Alsibai S. Gastroenteritis outbreaks in elderly homes in the east of France during winter 2009/10: aetiology research for a series of 37 outbreaks. **Euro Surveill**. 2012; 17 (9). Doi:pii: 20103.
- Hassine-Zaafrane M, <u>Kaplon J</u>, Sdiri-Loulizi K, Aouni Z, <u>Pothier P</u>, Aouni M, <u>Ambert-Balay K</u>. Molecular prevalence of bovine Noroviruses and Neboviruses detected in central-eastern of Tunisia. Arch. Virol. 2012; 157 (8): 1599-604.
- 6. Deboosere N, Pinon A, Gaudrelier Y, Delobel A, Merle G, Perelle S, Temmam S, Loutreul J, Morin T, <u>Estienney M, Belliot G</u>, <u>Pothier P</u>, Gantzer C, Vialette M. Adhesion of human pathogenic enteric viruses and surrogate viruses to insert and vegetal food surfaces. Food Microbiol. 2012. 32 (1): 48-56.
- 7. <u>Ambert-Balay K</u>, Pothier P. Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of norovirus in faecal samples. J Clin Virol. 2013; 56 (3): 194-198.
- 8. <u>Belliot G</u>, Loutreul J, <u>Estienney M</u>, Cazeaux C, Nicorescu I, Aho S, Gervais P, Orange N, Pothier P, Morin T. Potential of Pulsed Light to Inactivate Bacteriophage MS2 in Simple Liquid Medium and on Complex Foodstuffs. Food Environ Virol. 2013 Mar 23.
- Hassine-Zaafrane M, Sdiri-Loulizi K, <u>Kaplon J</u>, Salem IB, <u>Pothier P</u>, Aouni M, <u>Ambert-Balay <u>K</u></u>. Prevalence and genetic diversity of norovirus infection in Tunisian children (2007-2010). J Med Virol. 2013; 85 (6): 1100-10.
- 10. van Beek J, **Ambert-Balay K**, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, Iritani N, Kroneman A, Vennema H, Vinjé J, White PA, Koopmans M; NoroNet. Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. Euro Surveill. 2013 Jan 3;18(1):8-9.
- 11. <u>Agnello D, Denimal D, Lavaux A, Blondeau-Germe L</u>, Lu B, Gerard NP, Gerard C, **Pothier P**. Intrarectal immunization and IgA antibody-secreting cell homing to the small intestine. J Immunol. 2013 May 1; 190 (9): 4836-47. doi: 10.4049/jimmunol.12029792013 Apr 1.
- 12. <u>Kaplon J, Fremy C</u>, Bernard S, Rehby L, Aho S, Pothier P, <u>Ambert-Balay K</u>. Impact of rotavirus vaccine on rotavirus genotypes and caliciviruses circulating in French cattle. Vaccine. 2013 Apr 8. doi:pii: S0264-410X(13)00374-5. 10.1016/j.vaccine.2013.03.039.
- 13. Coste JF, Vuiblet V, Moustapha B, Bouin A, Lavaud S, Toupance O, **de Rougemont A**, Benejat L, Megraud F, Wolak-Thierry A, Villena I, Chemla C, Le Magrex E, de Champs C, Andreoletti L, Rieu P, Leveque N. Microbiological diagnosis of severe diarrhea in kidney transplant recipients using multiplex PCR assays. J Clin Microbiol. 2013 Apr 3.

Publication soumises.

- 14. Page AL, Jusot V, Mamaty AA, Adamou L, Kaplon J, Pothier P, Djibo A, Laouali Manzo M, Toure B, Langendorf C, Collard JM, Grais RF. Multicentric surveillance of rotavirus diarrhea in urban and rural areas of Niger?
- 15. Caillère N, Vilain P, Brottet E, Kaplon J, Polycarpe D, Filleul L. Impact of a major outbreak of acute rotavirus gastroenteritis in Reunion Island, 2012.

7.3. COMMUNICATIONS NATIONALES

- Loutreul J, <u>Estienney M</u>, Cazeaux C, <u>Pothier P</u>, <u>Belliot G</u>, Morin T. Impact de la lumière pulsée sur le Virus de l'Hépatite A (VHA) et le bactériophage à ARN-F spécifique MS2. Journées Francophones de Virologie. Paris, 29 et 30 mars 2012.
- 2. <u>Sdiri-Loulizi K</u>, <u>Ambert-Balay K</u>, Ayouni S, <u>Pothier P</u>, Aouni M. Etude épidémiologique, présentation clinique et typage moléculaire des infections à calicivirus humains chez les enfants atteints de gastro-entérites en Tunisie. Journées Francophones de Virologie. Paris, 29-30 mars 2012.
- 3. <u>Sdiri-Loulizi K</u>, Ayouni S, <u>Bour JB</u>, Aouni M, Gueddiche MN, <u>Pothier P</u>, <u>Ambert-Balay K</u>. Caractérisation moléculaire et étude clinique des infections au virus Aichi détecté chez les enfants atteints de gastro-entérites en Tunisie. 32^e RICAI, CNIT Paris La Défense, 23 novembre 2012.
- 4. Leveque N, Coste JF, Vuiblet V, Noël N, Debrumetz A, de Rougemont A, Benejat L, Wolak-Thierry A, Villena I, de Champs C, Rieu P, Andreoletti L. Diagnostic microbiologique moleculaire des épisodes de diarrhées aiguës sévères du patient adulte transplanté de rein. 32^e RICAI, CNIT Paris La Défense, 23 novembre 2012.

7.4. COMMUNICATIONS INTERNATIONALES

- 1. Page AL, Jusot V, Mamaty AA, Adamou L. Kaplon J, Pothier P, Djibo A, Laouali Manzo M, Toure B, Langendorf C, Collard JM, Grais RF. "Burden and epidemiology of rotavirus diarrhea: results of a prevalence study in Niger", journée scientifique MSF-UK, 1er juillet 2011, Londres, Royaume-Uni
- 2. Même communication présentée au 60th annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 4-8 décembre 2011, Philadelphie, Etats-Unis
- 3. <u>de Rougemont. A, Kaplon J</u>, Pillet S, Mory O, Gagneur A, Payan C, Meritet J-f, Mollat C, Coste-Burel M, Lorrot M, Bingen E, Foulongne V, Rodiere M, Gillet Y, Lina B, Parez N, Garbarg-Chenon A, Languepin J, Alain S, Agius G, Oriot D, Dubos F, Hober D, Colimon R, Vabret A, Freymuth F, Huet F, Aho S, <u>Fremy C</u>, Gendrel D, <u>Pothier P</u>, and the French Rotavirus Network Molecular and clinical characterization of rotavirus acute gastroenteritis in French infants over 5 epidemic seasons, 2006-2011. 30th Annual Meeting of the European Symposium of Paediatric Infectious Diseases, ESPID 2012, 8-12 May, Thessaloniki, Greece.
- 4. Page AL, Adamou L, <u>Kaplon J</u>, Jusot V, Mamaty AA, Djibo A, Laouali Manzo M, Toure B, Langendorf C, <u>Pothier P</u>, Collard JM, Grais RF. Burden and epidemiology of rotavirus diarrhea: results of a prevalence study in Niger. 10th International Symposium Rotavirus. 19-21 septembre 2012, Bangkok, Thaïlande.
- 5. Même communication présentée au International African Vaccinology Conference. 8-12 novembre 2012. Le Cap, Afrique du Sud.

7.5. CONFERENCES SUR INVITATIONS

- <u>Pothier P</u>. Risque viral digestif. Congrès national de la Société Française d'Hygiène Hospitalière. 8 juin 2012, Lille, France
- Pothier P. Rotavirus et vaccination, épidémiologie et évolution des génotypes. Séminaire gastro-entérites aiguës, 6 octobre 2012. Rabat. Maroc.
- 3. Même communication présentée au International African Vaccinology Conference. 8-12 novembre 2012. Le Cap, Afrique du Sud.
- 4. Pothier P. Le risque viral digestif. Séminaire gastro-entérites aiguës, 6 octobre 2012, Rabat, Maroc.
- 5. **Pothier P.** Epidémiologie des gastro-entérites virale dans les pays développés. 23 novembre 2012, 32^e RICAI, CNIT Paris La Défense.
- de Rougemont A. Les virus émergents responsables de gastro-entérites. 23 novembre 2012, 32^e RICAI, CNIT Paris La Défense.
- Ambert-Balay K. Le diagnostic biologique des virus responsables de gastro-entérites. 23 novembre 2012, 32^e RICAI, CNIT Paris La Défense.
- 8. **Pothier P.** Les virus entériques. Désinfectants et antiseptiques. Réunion des équipes opérationnelle d'hygiène, 28 février 2013, Strasbourg.
- 9. Pothier P. Norovirus et rotavirus. Une répartition mondiale. Rencontres de l'APLF, 28-30 avril 2013, Marrakech, Maroc.

7.6. CONTRATS DE RECHERCHE EN COURS ET LIES AUX ACTIVITES DU CNR

- 1. CMCU, Comité Mixte Franco-Tunisien pour la Coopération Universitaire « Suivi des virus entériques dans l'environnement : variabilité génétique, typage moléculaire-phylogénie des astrovirus, calicivirus et de l'hépatite A. Collaboration avec le Pr M. Aouni de l'Université de Tunis.
- 2. Contrats européens : EuroRotaNet: Contrat Health Protection Agency : épidémiologie des rotavirus en Europe.
- 3. Contrat d'étude Sanofi-Pasteur-MSD : épidémiologie des rotavirus en France (2006-2012.

8. PROGRAMME D'ACTIVITE 2012 ET 2013

8.1. EN TERMES D'EXPERTISE

8.1.1. Participation aux réseaux européens et mondiaux (FBVE et NoroNet, EuroRotaNet)

Notre participation aux réseaux européens FBVE-Net et EuroRotaNet se poursuivra durant toute la période du contrat, c'est-à-dire au moins jusqu'en 2016. Il en est de même pour notre participation au réseau mondial « NoroNet ».

Ces participations nous donnent l'accès à une base de données incomparable et la possibilité de comparer et évaluer nos protocoles et techniques.

8.1.2. Mise à disposition des protocoles de diagnostic et contrôles externes.

Les protocoles de diagnostic des virus entériques utilisés au CNR des virus entériques sont mis à la disposition des laboratoires souhaitant développer ces techniques *in situ*. Cette mise à disposition peut s'accompagner de la formation d'un technicien ou biologiste.

En collaboration avec l'AFSSAPS, nous envisageons de poursuivre la mise à disposition de contrôle de qualité externe pour les réactifs de diagnostic des rotavirus.

8.1.3. Développement et diffusion des méthodes de diagnostic des norovirus

Durant les années à venir, le diagnostic des norovirus se réalisera soit par des méthodes de biologie moléculaire soit par immunodiagnostic.

• Les méthodes de biologie moléculaire :

Les méthodes de biologie moléculaire sont plus adaptées aux laboratoires spécialisés en microbiologie. Pour répondre à leurs demandes de rationalisation des procédures et assurer la plus large diffusion de ces techniques dans les laboratoires de virologie, nous collaborons avec les industriels du diagnostic virologique pour rendre disponible des méthodes de PCR temps réel compatible avec celles utilisées pour d'autres virus.

• Méthode d'analyse par immunochromatographie.

Les méthodes d'analyse par immunochromatographie sont les plus adaptées aux laboratoires non spécialisés voire même à une utilisation « au lit du patient ». A ce jour, les tests disponibles ne donnent pas entière satisfaction quant à leur sensibilité.

A partir des pseudo-particules virales de différents génotypes de norovirus nous disposons d'une collection d'anticorps monoclonaux qui seront les réactifs de base pour la mise au point de méthodes en immunochromatographie.

Nous espérons développer une technique d'immunochromatographie fiable et abordable pour la plupart des laboratoires.

8.1.4. Diarrhées chroniques chez les transplantés

En collaboration avec les équipes de transplantation de l'hôpital Necker, nous avions montré l'importance de la surveillance des norovirus chez les immunodéprimés, notamment les transplantés d'organes. Depuis, nous travaillons régulièrement avec plusieurs centres de transplantation. Notre objectif pour les années à venir est de collaborer avec tous les centres français de transplantations afin qu'ils puissent réaliser ces diagnostics, soit par des détections faites localement, soit en leur assurant ces diagnostics. La caractérisation des génotypes pouvant être faite au CNR des virus entériques.

Nous avons initié un suivi épidémiologique de ces infections afin d'en préciser l'importance, les particularités et les conséquences pour les patients. Notamment nous chercherons à déterminer si les conditions de restriction d'hôte liées aux antigènes des groupes sanguins ABO sont applicables à cette population d'immunodéprimés ou si la sensibilité déterminée par ce système antigénique influence la gravité ou la chronicité de la diarrhée. Notre second objectif est d'accompagner les projets de recherche des cliniciens.

8.2. CONTRIBUTION A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE

8.2.1. Partenariat et collaborations (InVS, IFREMER, ANSES, CNR hépatites A et E):

InVS, délégations territoriales des ARS, CIRE,

IFREMER (Dr S LE GUYADER),

ANSES (Dr S PERELLE et B GASSILLOUD),

CNR des hépatites A et E (Pr AM ROQUE AFONSO et Pr J ISOPET).

Les précédentes années, nous avons étendu notre recrutement sur l'ensemble du territoire métropolitain et en Outre-mer. Aujourd'hui, le CNR des virus entériques est parfaitement connu de l'ensemble des CIRE et des délégations territoriales des ARS.

8.2.2. Surveillance des gastroentérites à rotavirus

La vaccination contre les rotavirus concerne actuellement environ 8% de la population infantile. La prise en charge ou non de cette vaccination fait encore débat en France. Nous **poursuivrons la surveillance épidémiologique des rotavirus en milieu pédiatrique en** collaboration avec les réseaux français et européen EuroRotaNet.

Nous surveillerons la circulation des génotypes « classiques » G1 à 4 et G9 et les variations de leur fréquence. Mais nous surveillerons également les souches inhabituelles notamment le génotype G12 qui représentent un risque d'émergence pour le futur.

Cette surveillance est étendue à certains départements ou collectivités d'Outre-Mer.

Nous collaborons avec des laboratoires africains à la surveillance de ces virus dans leur pays afin d'anticiper l'émergence de nouvelles souches en Métropole.

Pour mieux surveiller et comprendre le risque de transmission de l'animal à l'homme, nous avons couplé à cette étude épidémiologique humaine à une surveillance chez les bovins. Nous collaborons avec plusieurs laboratoires départementaux des services vétérinaires.

8.2.3. Investigations des cas groupés de gastroentérites

- La surveillance des souches de norovirus et l'étude de leur évolution est **un de nos objectifs prioritaire pour les années à venir.** Pour atteindre cet objectif, nous comptons sur le l'analyse des épidémies qui nous parviennent de l'ensemble du territoire grâce à nos collaborations avec les délégations territoriales des ARS et des CIRE. Le recrutement actuel nous permet d'avoir une vision représentative de la circulation des souches virales en France.
- Nous poursuivrons notre étroite collaboration avec nos partenaires IFREMER, ANSES et CNRs hépatites A et E pour toutes les investigations de cas groupés de gastroentérites lorsqu'une origine alimentaire ou hydrique est suspectée.

- Procédures d'investigation et bilans hebdomadaires

La transmission des données à l'InVS sera effectuée via la base de données partagée **Voozanoo**.

Les bilans hebdomadaires instaurés lors des précédentes années seront poursuivis.

- Logistique, transport des échantillons

Aujourd'hui, les échantillons nous sont adressés soit par l'intermédiaire d'un laboratoire de proximité soit directement par l'établissement concerné par l'épidémie de gastroentérites. Lorsque le laboratoire se charge du transport il utilise le plus souvent ses propres procédures. Le CNR des virus entériques de Dijon rembourse les frais de transport soit à l'établissement soit au laboratoire de proximité. Nous recherchons a intégrer notre **logistique de transport dans nos procédures élaborées dans le cadre de notre accréditation**.

8.3. CONTRIBUTION A L'ALERTE DE L'INVS

Les procédures d'alerte de l'InVS seront poursuivies.

L'InVS est informée d'une nouvelle épidémie selon une procédure formalisée. Cette procédure formalisée concerne également les épidémies d'origine alimentaire avérée qui nous parviendraient directement. L'InVS est également informée lors des réunions téléphoniques hebdomadaires.

Tout événement apparaissant anormal ou nécessitant une discussion avec les épidémiologistes est transmis à l'InVS via nos contacts.

Toute modification de la répartition des souches virales ou l'apparition de nouvelles souches est transmises à l'InVS soit via nos contacts lors des réunions hebdomadaires, soit immédiatement si l'importance de l'information le nécessite.

Les alertes européennes concernant les risques alimentaires sont diffusées par internet par le réseau FBVE-Net. L'InVS, ANSES et IFREMER sont informés de ces alertes en même temps et par les mêmes voies que le CNR des virus entériques.

8.4. ACTIVITE D'INFORMATION, FORMATION, CONSEIL

8.4.1. Site web

Le site web sera continuellement mis à jour. Il nous permet une présentation du CNR et de ses missions. Il détaille les conditions de prélèvement des selles, de leur conservation et de leur acheminement au CNR, les virus recherchés au CNR. Il sera dans les années à venir un de nos moyens de communication les plus importants. Lien web : www.cnr-ve.org

8.4.2. Activité de conseil

Le CNR des virus entériques répondra à la demande des autorités lorsque le sujet concernera son domaine de compétence.

Comme par le passé, le CNR des virus entériques apportera son aide ou ses conseils aux établissements publics, aux établissements de soins ou d'hébergement (publics ou privés), aux administrations qui lui en feraient la demande.

Sous certaines conditions, nos conseils peuvent être dispensés aux entreprises privées.

8.4.3. Activité de formation

L'activité de formation se fera essentiellement par l'accueil et l'encadrement de stagiaires. Une formation par séminaire, enseignement postuniversitaire, publications didactiques est également envisagée.

8.4.4. Colloques et réunions scientifiques

Nous participerons régulièrement aux diverses réunions scientifiques organisées par les cliniciens, pédiatres et hygiénistes.