

Rapport annuel d'activité

2015

**Centre de national de référence
des
virus entériques
(entérovirus exclus)**

**Année d'exercice
2014**



Résumé analytique

I. L'équipe du CNR des virus entériques

Le CNR des virus entériques (entérovirus exclus) est localisé dans le laboratoire de virologie du CHU de Dijon. Il y bénéficie d'une autonomie administrative (UF spécifique) mais mutualise au sein du pôle de biologie locaux et équipements. Il a été renouvelé en 2012 et son responsable est le professeur Pierre Pothier. Six biologistes (environ 3 ETP), 5 techniciens (4,8 ETP) et 1 secrétaire participent à l'activité de ce CNR.

II. Les missions et le contexte

Le CNR a des missions d'expertise, de surveillance et d'alerte en lien avec l'InVS dans le domaine des gastro-entérites virales. En France comme en Europe, les gastro-entérites virales posent surtout un problème de morbidité, mais qui est polymorphe. Polymorphe en effet car deux virus en sont les principaux agents, les rotavirus et les norovirus ; nous disposons d'un vaccin uniquement pour le premier ; trois groupes de patients sont principalement concernés par ces infections, les enfants pour le rotavirus et personnes âgées vivant en collectivités (EHPA surtout) pour les norovirus et enfin les immunodéprimés ; et ces infections surviennent régulièrement en période hivernale ou bien par épidémies brutales (cas groupés) lors de contaminations alimentaires ou hydriques.

III. Les objectifs du CNR et les principaux résultats en 2014

Dans ce contexte, le CNR des virus entériques a concentré ses actions autour de 3 objectifs principaux : 1) l'expertise virologique à apporter à la communauté médicale, 2) la surveillance des gastro-entérites infantiles à rotavirus et 3) les gastro-entérites épidémiques en EHPA.

• Activités d'expertise virologique

- **Evaluer les réactifs** : Afin de diffuser une information précise sur les trousse de diagnostic des infections à norovirus et à rotavirus en 2014, nous avons évalué la sensibilité et la spécificité des principaux réactifs par immunochromatographie. Nous avons fait de même pour les réactifs moléculaires. Les résultats nous permettent un conseil avisé aux collègues qui nous contactent.
- **Investigations virologiques chez les immunodéprimés. Chez les enfants SCID** présentant un déficit immunitaire sévère ayant fait une **diarrhée chronique après vaccination Rotarix**. Mais aussi pour suivre les **infections à norovirus** chez un patient sous traitements immunosuppresseurs.
- **Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal**. Nous apportons notre expertise aux cliniciens utilisant ce traitement et aux institutions en charge de la réglementer.

• Gastroentérites infantiles à rotavirus

Les vaccins anti-rotavirus sont efficaces vis-à-vis des souches les plus répandues en Europe ; leur efficacité vis-à-vis des souches inhabituelles est plus incertaine. Afin de pouvoir apprécier l'impact de la vaccination sur l'évolution ou l'émergence des génotypes du rotavirus, le CNR a réalisé une surveillance moléculaire depuis 8 saisons. Les principaux résultats sont : une **variabilité cyclique des génotypes G2, G3 et G4**, une **grande variabilité géographique**. **Les points à vérifier pour les prochaines années sont l'éventuelle émergence du génotype G12 et la sélection du génotype G2P4 sous l'effet de la pression vaccinale par le vaccin monovalent Rotarix™.**

• Les gastroentérites épidémiques en EHPA / EHPAD ou « cas groupés » de gastroentérites

Le CNR des virus entériques en collaboration avec l'InVS, les CIRE et les ARS réalise les investigations virologiques s'intégrant dans la prise en charge épidémiologique globale de ces épidémies. Les principaux résultats obtenus en 20143 montrent :

- Les norovirus GGII.4 sont toujours les principaux responsables de ces épidémies. Ils se caractérisent par une **étonnante capacité évolutive du génotype GII.4** avec l'apparition de nouveaux variants à l'origine de nouvelles épidémies tous les 2 à 4 années. **Nous n'avons pas observé l'émergence d'un nouveau variant durant les saisons 2013 à 2015**. Le même variant **GII.4 2012 ou Sydney** était le responsable des épidémies dont le nombre était beaucoup plus faible.
- Une étude prospective effectuée sur **sept années consécutives** montre que les **épidémies à norovirus représentent une charge importante pour les établissements de long séjour** qui nécessiterait d'être évaluée sur le plan médico-économique.

IV. Bilan

Les travaux du CNR réalisés ont fait l'objet de **16 publications dans des journaux internationaux** à comité de lecture depuis janvier 2014 (6 depuis janvier 2015) et 6 sont soumises, 7 communications lors de conférences internationales et 3 conférences comme membre invité. **Du 17 au 20 mai 2015, nous organiserons à Dijon le sixième congrès européen sur les rotavirus (6th European Rotavirus Biology Meeting).**

SOMMAIRE

1.	MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR DES VIRUS ENTERIQUES	1
1.1.	Objectifs spécifiques du CNR des virus entériques (entérovirus exclus)	1
1.2.	L'équipe et l'organisation du CNR	1
1.2.1.	Fiche d'identité du CNR	1
1.2.2.	L'équipe du CNR	1
2.	ACTIVITES D'EXPERTISE	2
2.1.	CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	2
2.1.1.	Evolution des techniques	2
2.1.2.	Transfert des techniques à d'autres laboratoires	2
2.1.3.	Collection de souches, d'antigènes ou d'anticorps de référence	2
2.2.	ACTIVITES D'EXPERTISE DU CNR (ANNEE 2013)	3
2.2.1.	Evaluation des trousse de diagnostic de rotavirus	3
2.2.2.	Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal.	4
2.2.3.	Investigations virologiques de cas sporadiques	4
2.2.3.1.	Entérocolites ulcéro-nécrosantes	4
2.2.3.2.	Surveillance de patients immunodéprimés	4
2.2.3.3.	Investigations virologiques chez deux enfants diarrhéiques présentant un déficit immunitaire combiné sévère (SCID).	6
2.2.4.	Investigations virologiques des épidémies.	7
2.2.5.	Principales souches virales caractérisées lors de ces épidémies.	8
2.2.6.	Conclusions sur les virus entériques caractérisés dans les épidémies.	10
3.	ACTIVITES DE SURVEILLANCE	11
3.1.	SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE DES GASTRO-ENTERITES A ROTAVIRUS	11
3.1.1.	Réseau de partenaires et répartition géographique	11
3.1.2.	Bilan de la surveillance des saisons 2006-2014	11
3.1.2.1.	Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus :	11
3.1.2.2.	Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P :	13
3.1.2.3.	Analyse séparée de la répartition des génotypes G ou P :	16
3.1.2.4.	Variations temporo-spatiales des combinaisons de génotypes G/P	18
3.1.2.4.1.	Variations des génotypes G/P entre 2006-2014 (figure 9) :	18
3.1.2.4.2.	Variabilité géographique des génotypes de rotavirus :	19
3.1.3.	Conclusion	21
3.2.	SURVEILLANCE DES CAS GROUPES DE GASTRO-ENTERITES	22
3.2.1.	Réseau de partenaires et répartition géographique	22
3.2.2.	Provenance des échantillons	23
3.2.3.	Caractéristiques des épidémies (2008 – 2014)	24
3.2.3.1.	Nature et évolution des épidémies	24
3.2.3.2.	Sites et modes de transmission (2008 à 2014)	24
3.2.3.3.	Virus en cause	29

3.3.	CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX	34
3.3.1.	Réseau internationaux « FBVE-Net », NoroNet » et « EuroRotaNet »	34
3.3.2.	Réseaux avec les pays Africains	35
3.3.2.1.	Réseau Tunisie, Algérie, Maroc	35
3.3.2.2.	Programme d'Appui à la Recherche en Réseau en Afrique (PARRAF)	35
3.3.2.3.	Autres collaborations internationales	36
3.4.	ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE	37
3.4.1.	Suivi de 18 établissements long séjour en Alsace (2008 à 2014)	37
3.4.2.	Caractérisation de nouveaux virus dans les selles de patients	37
4.	ALERTE	38
4.1.	CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC L'INVS	38
4.2.	PROCEDURES D'ALERTE DE L'INVS ET DES AUTRES PARTENAIRES	38
4.2.1.	Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (par une ARS, un laboratoire..) :	38
4.2.2.	Annonce d'une via la base Voozanoo de l'InVS :	38
4.2.3.	Arrivée de prélèvements sans annonce préalable :	38
4.3.	DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE	38
4.3.1.	Transmission des données à l'InVS	38
4.3.1.1.	Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo :	39
4.3.1.2.	Rendu des résultats à l'InVS :	39
4.3.1.3.	Anonymisation des prélèvements :	39
4.4.	PROCEDURES DE TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS DES CAS DE GEA	39
5.	ACTIVITE D'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	40
5.1.	SITE WEB	40
5.2.	ACTIVITE DE CONSEIL	40
5.3.	ACTIVITE DE FORMATION	40
5.4.	COLLOQUES ET REUNIONS SCIENTIFIQUES	40
6.	TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR	42
6.1.	ACTIVITES DE RECHERCHE EN LIEN AVEC LES MISSIONS DU CNR	42
6.1.1.	Etudes appliquées : Evaluation de réactifs	42
6.1.2.	Etudes épidémiologiques :	42
6.1.2.1.	Epidémiologie des rotavirus en Afrique.	42
6.1.2.2.	Epidémiologie des norovirus.	43
6.1.3.	Etudes épidémiologiques chez les animaux	43
6.1.4.	. Caractérisation de nouveaux virus dans les selles par métagénomique ..	44
6.1.5.	Etudes chez les immunodéprimés :	44
6.1.6.	Norovirus et contaminations environnementale et alimentaire	45
6.1.7.	Infections à rotavirus et à norovirus et antigènes de groupe sanguins	47
6.1.8.	Mécanismes de migration des lymphocytes B vers la muqueuse intestinale après immunisation mucosale.	48
6.2.	PUBLICATIONS EN LIEN AVEC LES ACTIVITES DU CNR (2014)	50

6.2.1.	Publications internationales :	50
6.2.2.	Communications internationales	51
6.2.3.	Communications sur invitation	51
7.	COOPERATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTE ANIMALE, D'HYGIENE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX	52
7.1.	COOPERATIONS STRUCTURELLES DANS LE CADRE DE NOS ACTIVITES DE SURVEILLANCE ET D'ALERTE	52
7.2.	COOPERATIONS DANS LE CADRE DE PROJETS DE RECHERCHE	52
7.2.1.	Coopérations universitaires	52
7.2.2.	Projets LABEX et ANR déposé en 2014	52
7.2.3.	Conclusion sur nos coopérations	53
8.	PROGRAMME D'ACTIVITE POUR LES ANNEES SUIVANTES	54
8.1.	ACTIVITES D'EXPERTISE	54
8.1.1.	Evaluation de trousse de diagnostic	54
8.1.2.	Développement du séquençage haut débit	54
8.1.3.	Investigations virologiques spécifiques	54
8.2.	CTIVITES DE SURVEILLANCE	55
8.2.1.	Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à rotavirus	55
8.2.2.	Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à norovirus	55
8.3.	CONTRIBUTION A L'ALERTE	55
8.4.	ACTIVITE D'INFORMATION, FORMATION ET CONSEIL.	55
8.4.1.	Site web	55
8.4.2.	Activité de conseil	55
8.4.3.	Activité de formation	56
8.4.4.	Colloques et réunions scientifiques	56

1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR DES VIRUS ENTERIQUES

Les missions et l'organisation du CNR des virus entériques (à l'exclusion des entérovirus) sont détaillées dans l'annexe 1. Elles ont été définies dans le cahier des charges spécifiques du CNR paru en janvier 2011

A ce niveau nous n'envisagerons que les modifications intervenues en 2013.

1.1. Objectifs spécifiques du CNR des virus entériques (entérovirus exclus)

Les **objectifs de surveillance** sont inchangés : gastro-entérites infantiles à rotavirus et cas groupés de gastro-entérites principalement dues aux norovirus.

Notre participation aux réseaux nationaux et internationaux est inchangée.

Nos **objectifs d'expertise** ont inclus depuis 2013 les investigations virologiques avant transfert de flore fécale, technique thérapeutique de plus en plus pratiquées et qui est soumis aux recommandations de l'ANSM.

1.2. L'équipe et l'organisation du CNR

1.2.1. Fiche d'identité du CNR

Les coordonnées du CNR et celles du responsable sont inchangées.

Par contre le **nom du responsable administratif** a changé au cours de l'année 2013.

Il s'agit dorénavant de :

Madame Elisabeth BEAU, Directrice Générale du CHU de Dijon

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 : elisabeth.beau@chu-dijon.fr

1.2.2. L'équipe du CNR

Madame le Docteur Christelle AUVRAY a quitté ses fonctions au CHU de Dijon. Elle a été remplacée par le Monsieur Docteur Ali SI-MOHAMMED, Praticien Hospitalier, Responsable Assurance Qualité pour le CNR. A l'exception de ce changement, l'équipe du CNR est la même que celle de 2013.

2. ACTIVITES D'EXPERTISE

2.1. CAPACITES TECHNIQUES DU CNR

2.1.1. Evolution des techniques

Les techniques de référence disponibles sont détaillées dans l'**annexe 2** (fin de document).

- **Durant l'année 2014** nous avons fait évoluer les techniques de biologie moléculaire :
 - Depuis fin 2012, les techniques **en temps réel et astrovirus en temps réel** ont progressivement remplacé les techniques en point final. Ce travail a été poursuivi en 2014 et nous avons adapté ces techniques à la quantification virale.
 - Décembre 2013/ janvier 2014, une technique de RT-PCR en temps réel pour la détection de norovirus de génogroupe I et II en un seul puit a remplacé les techniques précédentes de détection en puits séparés.
 - Nous avons développé et **adapté les techniques de RT-PCR en temps réel** pour quantifier les **norovirus murin**, les **norovirus humains GI et GII** et les **rotavirus**. Ces techniques sont également utilisées pour **quantifier les virus excrétés** dans les selles de **patients immunodéprimés dont les transplantés afin d'adapter les traitements ou suivre la reconstitution immunologique** (voir les chapitres surveillance et investigations virologiques chez les immunodéprimés).
- Enfin, nous disposons depuis 2013 d'un **séquenceur haut débit** (Roche GS Junior) et cette technique est en cours d'adaptation à la problématique des virus entériques.

2.1.2. Transfert des techniques à d'autres laboratoires

- Nous disposons de réactifs commercialisés pour le diagnostic des norovirus et des rotavirus. La demande de transfert de techniques se pose rarement en France. Par contre, **nous évaluons tous les réactifs mis sur le marché** afin de pouvoir donner un avis précis et adapté aux laboratoires qui nous en font la demande (voir ci-dessous, paragraphe 2.2.1.). Quelques fois pour les laboratoires français, plus fréquemment pour les laboratoires étrangers ou d'Outre-Mer la demande est un transfert de nos techniques. Nous fournissons à ces laboratoires nos procédures rédigées pour l'accréditation à venir, nous assurons un soutien technique à distance, au besoin nous accueillons un stagiaire.
- Par contre, la demande la plus fréquente des laboratoires français. comme étrangers est **la fourniture de témoins positifs**. Comme les norovirus ne cultivent pas sur cellules, nous disposons à cet effet d'un stock d'échantillons de selle dont le virus est parfaitement caractérisé. Avec, en outre, l'objectif de disposer d'un contrôle externe pour les tests immunochromatographiques, nous avons développé une collection d'antigènes synthétiques sous forme de VLPs. Ces VLPs reconstituent les principaux génotypes circulant en France, dont le dernier variant du génotype GII.4 2012 ou Sydney (voir annexe 2).

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

Voir annexe 2.

2.2. ACTIVITES D'EXPERTISE DU CNR (ANNEE 2013)

2.2.1. Evaluation des trousse de diagnostic de rotavirus

○ Nous avons publié en 2013 dans Journal of Clinical Virology (*J. Clin. Virol.* 2013; 56; 194-198) l'évaluation plusieurs trousse de diagnostic par immunochromatographie. Nous avons également évalué les **trousse moléculaires de diagnostic (RT-PCR en temps réel)** ainsi que des réactifs pour contrôle.

○ **En 2014, nous avons évalué les principales trousse de diagnostic du rotavirus de groupe A par immunochromatographie.**

Sept trousse ont été sélectionnées parmi celles répondant aux appels d'offre des hôpitaux. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 1.

	Sensibilité		Spécificité		Diagnostic Odds Ratio	
	%	(IC 95%)	%	(IC 95%)	DOR	(IC 95%)
IMMUNOQUICK® NoRotAdeno Biosynex réf. 0567_K10	78,2	(69,3-85,5)	100	(97,5-100)	1013,3	(60,8-16875,1)
VIKIA® Rota-Adeno bioMérieux réf. 31111	77,3	(68,3-84,7)	100	(97,5-100)	962,3	(57,8-16009,8)
SD BIOLINE Rotavirus Standard Diagnostics, Inc. réf. 14FK10	77,3	(68,3-84,7)	97,9	(94,0-99,6)	158,7	(46,5-541,5)
RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi R-Biopharm réf. N1003	76,4	(67,3-83,9)	100	(97,5-100)	915,2	(55,1-15211,6)
Combi K-Set Rota/Adeno CORIS BioConcept réf. K-1504	75,5	(66,3-83,2)	100	(97,5-100)	871,4	(52,5-14472,8)
NADAL® Rota-Adenovirus Test Nal von minden réf. 481015	73,6	(64,4-81,6)	99,3	(96,2-100)	396,6	(53,0-2966,2)
QUICK ROTA/ADENO® ALL.DIAG réf. 5549	69,1	(59,6-7,6)	100	(97,5-100)	636,4	(38,5-10523,8)

Tableau 1 : Performances diagnostiques des tests immunochromatographiques destinés à la détection rapide des antigènes des rotavirus du groupe A dans les selles. Les tests évalués ont été réalisés en parallèle sur une collection de 253 selles collectées en 2014 au cours du pic épidémique à rotavirus. Parmi les 253 échantillons de cette collection, un rotavirus a été détecté dans 110 échantillons (43,5%) par la technique de référence (RT-PCR en temps réel). Le génotypage G et P des souches de rotavirus détectées indique que les souches de rotavirus G9P[8] (34,6%) et G1P[8] (33,6%) prédominent.

Les sept trousse présentent des performances similaires. On peut relever de petites différences pour la sensibilité d'un test et pour le « Diagnostic Odds Ratio » de deux tests, mais ces différences ne sont pas significatives. Le « Diagnostic Odds Ratio » est un indicateur de l'intérêt diagnostic d'un test.

L'évaluation de ces trousse de diagnostic nous permet de donner des conseils appropriés aux situations spécifiques des laboratoires de microbiologie voulant les utiliser.

2.2.2. Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal.

○ Au cours de l'année 2014 nous avons participé à un programme de recherche sur le traitement de maladie inflammatoire chronique intestinale par transplantation de microbiote fécale. Nous avons élaboré un **protocole et une organisation du CNR permettant la détection des principaux virus entériques et un rendu des résultats dans moins 9 jours suivants le prélèvement**. Cette activité d'expertise, d'abord initiée avec un Centre Hospitalier, a été étendue à 3 autres CHU.

○ En mars 2014, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) a émis des recommandations afin d'encadrer la transplantation de microbiote fécal pour garantir la sécurité des patients concernés, notamment au niveau du risque virologique. Nous avons donc décidé que notre CNR devait favoriser l'accès à cette technique thérapeutique :

→ **en étendant notre activité d'expertise – dans les mêmes conditions de délais - à tous les établissements** qui souhaitent développer le transfert de fore fécale.

→ **En rationalisant au maximum cette activité de façon à réduire le délai de rendu des résultats : 3 à 7 jours après réception** (selon le jour de réception)

→ **en mettant un support technique à la disposition des centres** voulant développer « *in situ* » ces analyses.

→ **En participant aux réunions de travail organisées par l'ANSM sur ce sujet.**

2.2.3. Investigations virologiques de cas sporadiques.

2.2.3.1. Entérocolites ulcéro-nécrosantes

En 2014, nous avons exploré 2 « épidémies » d'entérocolites ulcéro-nécrosantes (2 et 7 nouveau-nés). La recherche de virus entériques était négative pour une épidémie (2 selles) et nous avons retrouvé un rotavirus (non typable) dans les selles de 2 des 7 nouveau-nés de l'autre épidémie. Nous avons exploré 23 épidémies et 119 nouveau-nés depuis 2008 où nous avons trouvé différents virus, lorsque nous retrouvions un virus.

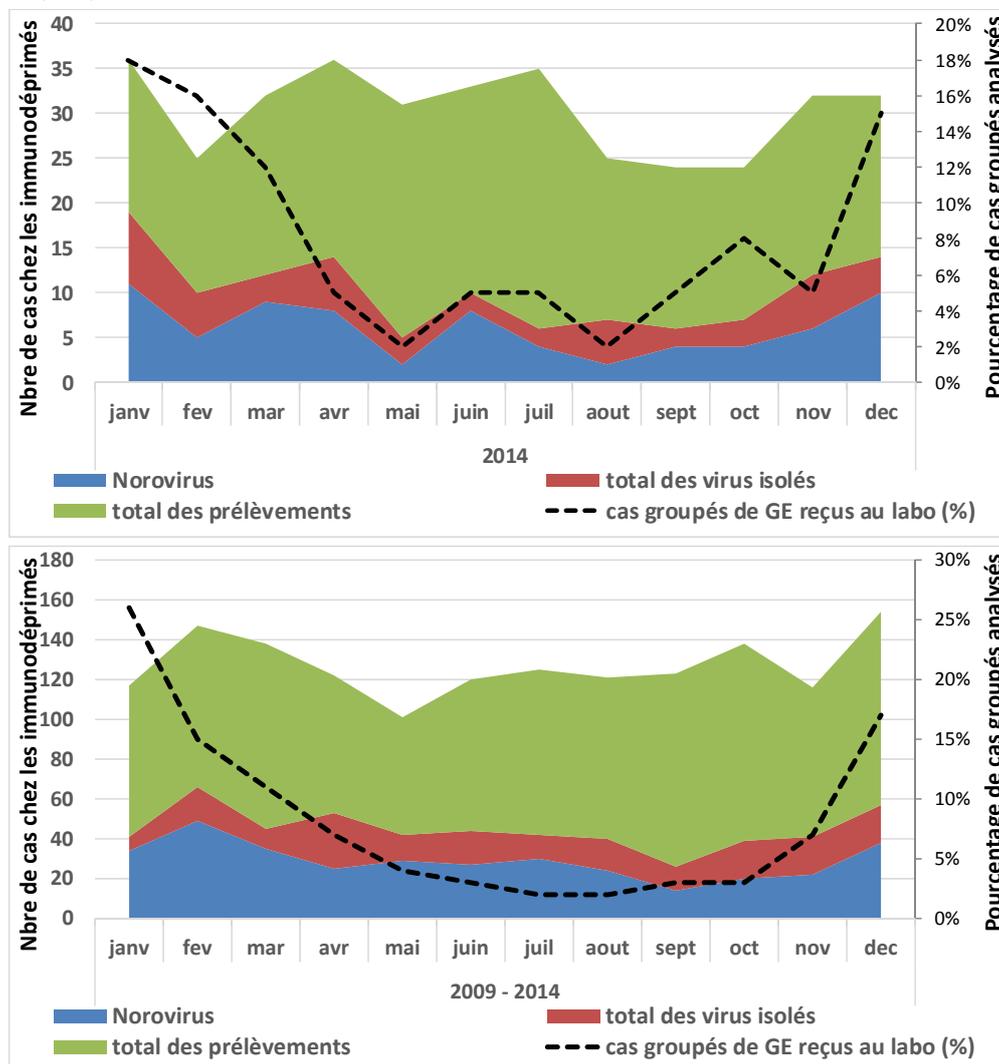
2.2.3.2. Surveillance de patients immunodéprimés

○ En collaboration avec les services de transplantations de l'hôpital Necker (AP-HP), nous avons montré **l'importance du norovirus dans les diarrhées chroniques survenant chez l'immunodéprimé** (*Transplantation. 2011 ; 92 :61-9*). En parallèle, nous avons largement ouvert les facilités du CNR des virus entériques aux établissements traitant ces immunodéprimés. Cette activité s'est poursuivie durant l'année 2014 avec la participation de **44 centres** dont 11 nous ont adressé au moins 10 prélèvements de patients.

○ **Sur l'ensemble de l'année 2014 nous avons reçu 371 selles représentant le suivi de 317 patients** provenant de différents hôpitaux. Pour 282 patients nous n'avons reçu qu'un seul prélèvement (97 étaient positifs pour au moins un virus). Pour 35 patients, nous avons reçu plusieurs prélèvements (2 à 4) et pour 17 patients nous avons trouvé au moins 1 prélèvement positif. Au total, 114 patients sur les 317 étaient infectés par au moins un virus entérique, **soit 36% des patients. Les norovirus seuls (92 cas) ou associés avec un autre virus entérique sont impliqués chez 68 patients souffrant de gastro-entérites soit 21,5% des patients**. Il s'agit en grande majorité du génogroupe GII (91%) et

principalement du génotype GII.4 (52%). Cette distribution des génotypes de norovirus correspond à celle observée dans la population générale durant cette année 2014. Essentiellement des norovirus génogroupe II (90%) et parmi ce génogroupe, le génotype GII.4 est majoritaire (59%) avec principalement le variant GII.4 2012. Mais, contrairement à la population générale ou âgée, nous **n'avons pas observé d'incidence saisonnière marquée** (figure 1a).

○ **Au total depuis janvier 2009** nous avons reçu **1522 prélèvements** provenant de 44 hôpitaux suivant des transplantés. Cela représente **le suivi de 1154 patients** pour lesquels on a reçu au moins 1 selle. Au total, **403 patients (34,9%)** avaient au moins une selle **positive** pour un des virus entériques recherchés. **Un norovirus** était retrouvé chez 190 patients soit **dans 22,3% des diarrhées**, venaient ensuite les adénovirus (4,8%) et les sapovirus (3%).



Figures 1a et 1b : **a** : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des immunodéprimés sur les 371 prélèvements reçus **entre janvier 2014 et décembre 2014.**

b : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des immunodéprimés sur les 1522 prélèvements reçus **entre janvier 2009 et décembre 2014.**

Pour comparaison, la répartition (%) des cas groupés de gastro-entérites investigués au CNR (courbe pointillée noire) durant l'année 2014 (a) ou la période 2009-2014 (b)

2.2.3.3. Investigations virologiques chez deux enfants diarrhéiques présentant un déficit immunitaire combiné sévère (SCID).

- Kaplon J, Cros G, Ambert-Balay K, Leruez-Ville M, Chomton M, Fremy C, Pothier P, Blanche S. [Rotavirus vaccine virus shedding, viremia and clearance in infants with severe combined immune deficiency.](#) *Pediatr Infect Dis J.* 2015 Mar;34(3):326-8.
- Courant 2013, nous avons été sollicités par l'hôpital Necker (AP-HP) pour 2 nourrissons de 4 et 5 mois hospitalisés pour diarrhée chronique à rotavirus après une seconde dose de vaccin Rotarix®. Les deux enfants présentaient un SCID. L'un était lié à l'X et a bénéficié d'une thérapie génique deux mois après son hospitalisation. Le second était un déficit en Adénosine désaminase traité par enzymothérapie de substitution en attendant une thérapie génique.
- Nous avons voulu prouver l'origine vaccinale du virus responsable de la diarrhée et mesurer l'importance de la diffusion du rotavirus dans l'organisme avant et durant le traitement pour apprécier la reconstitution immunologique spécifique.
- L'identité entre les deux virus isolés et la souche vaccinale a été prouvée par la comparaison des séquences des gènes codant les protéines VP4, VP6, VP7 et NSP4. **L'homologie avec la souche vaccinale était de 99,6-100% en nucléotides** et 99,3-100% en acides aminés. Au contraire, cette homologie avec les souches circulantes de même génotype (G1P[8] n'était que de 87,4-97,9% en nucléotides et 92,4-97,1% en acides aminés.
- La charge virale dans les fèces des deux enfants était élevée (10^{12} copies/g et $9,2 \times 10^{11}$) et dans le sang elle était de $6,8 \times 10^4$ copies/mL pour l'enfant SCID lié à l'X et de $6,8 \times 10^3$ pour le second enfant (figure 2).

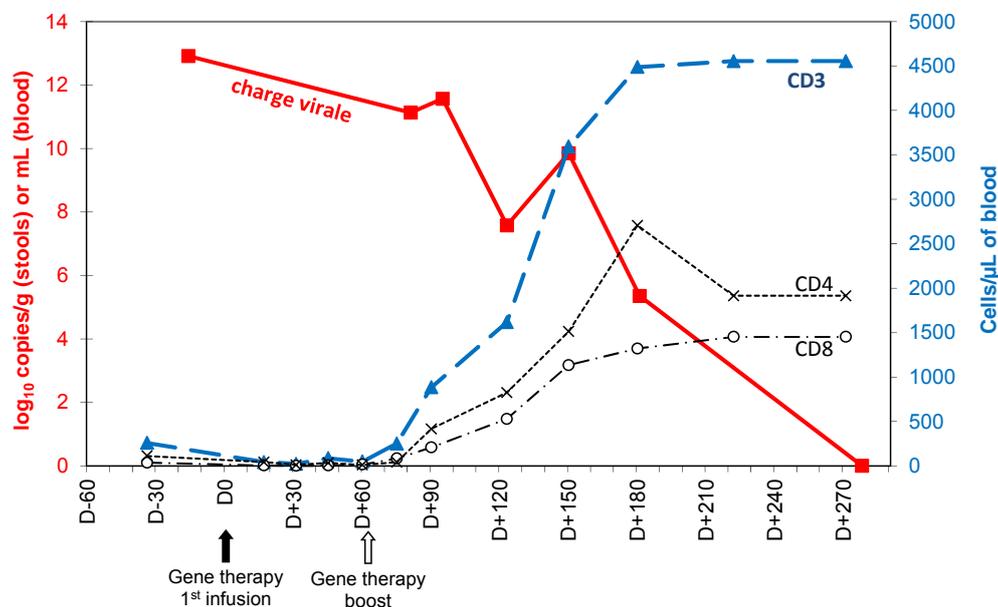


Figure 2 : La surveillance de ces deux critères, charge virale dans les fèces (■) et dans le sang (★) a montré une diminution des charges virales parallèlement à la reconstitution immunologique mesurée par ailleurs par le nombre de lymphocytes CD3 (▲) dans le sang (figure ci-dessous pour le premier enfant SCID lié à l'X)

2.2.4. Investigations virologiques des épidémies.

○ 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 ; beaucoup plus rarement – lorsque le nombre de prélèvements le justifiait - par un transporteur agréé ayant une convention avec le CNR (société TSE, Lyon).

Epidémies année = nombre	Virus	Noro	Sapo	Rota A	Adéno	Astro	Aichi	Entéro	Agent inconnu
2010 = 276	Monoinfections : 215	203	2	6	1	2	1	0	39 (14,1%)
	Infections mixtes: 22	21	1	5	1	1	5	3	
2011 = 272	Monoinfections : 203	188	6	9	0	0	0	0	47 (17,3%)
	Infections mixtes: 22	44	1	2	1	1	1	3	
2012 = 337	Monoinfections : 266	237	5	20	4	0	0	0	58 (17,2%)
	Infections mixtes: 13	26	5	7	3	2	2	1	
2013 = 304	Monoinfections : 254	232	3	9	7	3	0	0	38 (12,5%)
	Infections mixtes: 12	7	8	2	5	4	3	1	
2014 = 242	Monoinfections : 177	156	6	7	4	3	0	1	54 (22,3%)
	Infections mixtes : 11	11	6	7	5	2	1	0	

Tableau 2 : Epidémies investiguées et virus recherchés et caractérisés.

Année 2014 :

Total prélèvements analysés : 815 ; soit par épidémie moyenne: 3,4 +/- 2,8 ; médiane : 3.

Epidémies positives (188) :

Prélèvements reçus : 660 ; soit par épidémie : moyenne : 3,5 +/- 2,5 ; médiane : 3.

Prélèvements positifs : 517 ; moyenne : 2,7 / épidémie +/- 2 ; médiane : 2.

Epidémies négatives (54) :

Prélèvements reçus : 155 : en moyenne : 2,9 +/- 2,1 par épidémie et médiane : 2/épidémie.

○ En 2014, nous avons expertisé **242 épidémies dont 188 étaient positives** pour un virus entérique soit **77,7%** (pour 87,9% d'entre elles un norovirus était retrouvé dans les prélèvements de selles seul ou associé à un autre virus).

Si on analyse les **54 épidémies « négatives » (22,3%)**, on constate que pour 18 d'entre elles nous n'avons qu'un seul prélèvement. Quoiqu'il en soit, l'observation du tableau ci-dessus montre qu'en disposant de 3 à 4 prélèvements par épidémie nous pouvions prouver son origine virale (Tableau 3).

		Nombre de prélèvements analysés														Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	21	
Nombre de prélèvements positifs	0	18	11	9	7	2	3	2	1	0	1					54
	1	30	17	8	1	1			1							58
	2		27	10	2	1	1	1		1						43
	3			22	11	2		2								37
	4				11	6	4									21
	5					15	2	1	1		1					20
	6						1		1							2
	7							2			1					3
	8															
	9									1			1			2
	12												1			1
	15														1	1
	Total		48	55	49	32	27	11	8	4	2	3		2	1	

Tableau 3 : Nombre de prélèvements positifs en fonction du nombre de prélèvements reçus. Pour 109 épidémies le nombre de prélèvements positifs correspondait exactement au nombre de prélèvements reçus au laboratoire du CNR. Cette proportion est inférieure à celle observée l'an dernier (45% contre 53% en 2013).

2.2.5. Principales souches virales caractérisées lors de ces épidémies.

○ **Norovirus** : 193 souches ont été caractérisées dans 167 épidémies positives ≥ 1 norovirus en 2014 les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Les norovirus du génogroupe II sont toujours largement majoritaires, 81% des norovirus caractérisés en 2014. Cependant on assiste à une légère diminution de cette proportion d'année en année, 2% entre 2006 et 2012, 88% en 2013 et 81% en 2014).

L'autre constatation concerne la place des **génotypes GII.4** dans la responsabilité des épidémies. Ce génotype était très largement majoritaire entre 2006 et 2012 (79,2% des souches de génogroupe II), également en 2013 (82% des souches de génogroupe II). Il ne représente que 63,7% des souches de génogroupe II en 2014. Au sein de ce génogroupe, le **génotype GII.6** semble plus fréquent depuis 2013.

○ **Rotavirus (19 souches** retrouvées dans 14 épidémies) : principaux génotypes: 6 G1P[8]; 1 G2P[4]; 4 G3P[8] et 7 G9P[8].

○ **Sapovirus 12 souches** dont 5 sont de génogroupe GI.2.

○ **Adénovirus (9 souches)** : dont 2 de type 41, autres types : 2, 3, 5 et 6.

○ **Astrovirus** : 5 souches : 3 de type 2, 1 de type 5 et 1 non-typable.

○ **Aichi virus** : 1 souche retrouvée dans une **épidémie d'origine hydrique**.

○ **Entérovirus** : 1 souche.

Norovirus	2006 - 2012			2013			2014		
	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%
GI non typable				4		1,5%	14		7,3%
GI.1	8			0		0,0%	1		0,5%
GI.2	10			0		0,0%	6		3,1%
GI.3	11			9		3,5%	8		4,1%
GI.4	31			3		1,2%	1		0,5%
GI.5	5			0		0,0%	0		0,0%
GI.6	4			0		0,0%	1		0,5%
GI.7	9			0		0,0%	0		0,0%
GI.8	5			1		0,4%	1		0,5%
GI.9	4			2		0,8%	0		0,0%
GI.10	2			0		0,0%	0		0,0%
GI.12	3			0		0,0%	0		0,0%
GI.14	1			0		0,0%	0		0,0%
GI.b/I.4				1		0,4%	1		0,5%
GI.b/I.6	4			10		3,9%	1		0,5%
GI.e				1		0,4%	0		0,0%
GI.f				0		0,0%	2		1,0%
GII non typable					5	1,9%		10	5,2%
GII.1		2			0	0,0%		0	0,0%
GII.2		15			6	2,3%		5	2,6%
GII.3		3			0	0,0%		2	1,0%
GII.4 2006a		69	6,0%						
GII.4 2006b		227	19,6%						
GII.4 2008		26	2,2%						
GII.4 2009		418	36,1%		3	1,2%		4	2,1%
GII.4 2009/2012		0	0,0%		32	12,4%		25	13,0%
GII.e/GII.4 2012		87	7,5%		152	58,7%		71	36,8%
GII.5					1	0,4%		0	0,0%
GII.6		37	3,2%		12	4,6%		26	13,5%
GII.7		16			2	0,8%		0	0,0%
GII.7/II.6		10			1	0,4%		1	0,5%
GII.8		1			1	0,4%		0	0,0%
GII.13		13							
GII.14		1			3	1,2%		0	0,0%
GII.17					1	0,4%		1	0,5%
GII.21/II.3					3	1,2%		2	1,0%
GII.22/II.5					1	0,4%		0	0,0%
GII.c/II.1					1	0,4%		1	0,5%
GII.e/II.2					0	0,0%		2	1,0%
GII.g					2	0,8%		0	0,0%
GII.g/II.1					2	0,8%		7	3,6%
Total général	113 (9,8%)	1044 (92,2%)		31 (12%)	228 (88%)		36 (19%)	157 (81%)	

Tableau 4 : Souches de norovirus caractérisées depuis 2006 à 2012 puis en 2013 et 2014. Outre la diminution des norovirus de génogroupe II, et au sein de ce génogroupe, de l'ensemble des variants GII.4, on constate un glissement évolutif de ces variants que l'on observera sur les courbes présentées plus loin dans la partie « activité de surveillance – surveillance des cas groupés de gastro-entérites » (figure 19, p 32).

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

Comme en 2013 où l'on notait légère baisse de l'activité on note une baisse, plus nette, de l'activité (-20,4%) en 2014 par rapport à 2013 :

Deux raisons peuvent l'expliquer.

1. Il est possible que les centres nous adressent moins de prélèvements lors de leurs épidémies, soit parce qu'ils gèrent l'épidémie sur les critères cliniques dont ils disposent, soit parce qu'ils trouvent sur place les ressources pour un diagnostic.
2. L'autre raison est liée aux caractéristiques antigéniques de la souche circulant depuis 2012. **L'hiver 2012-2013** avait été marqué par l'arrivée dès le mois de septembre du **nouveau variant GII.4 2012 ou GII.4 Sydney** (tableau 4, page 9 et figure 19, page 32) selon la nomenclature utilisée¹. Ce nouveau variant a été responsable de la majorité des épidémies analysées durant l'hiver 2012/2013. La persistance de ce même variant lors des deux dernières saisons hivernales explique probablement le nombre relativement moins élevé d'épidémies investiguées par notre CNR en 2013 et 2014.

¹ Ce variant « Sydney » ou 2012 est dénommé GII.4 2009/2012 et GIIe/GII.4 2012 dans le tableau 4 et ultérieurement. Ces dénominations correspondent à 2 présentations génétiques au niveau de la polymérase du virus « Sydney ».

3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

3.1. SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE DES GASTRO-ENTERITES A ROTAVIRUS

3.1.1. Réseau de partenaires et répartition géographique

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

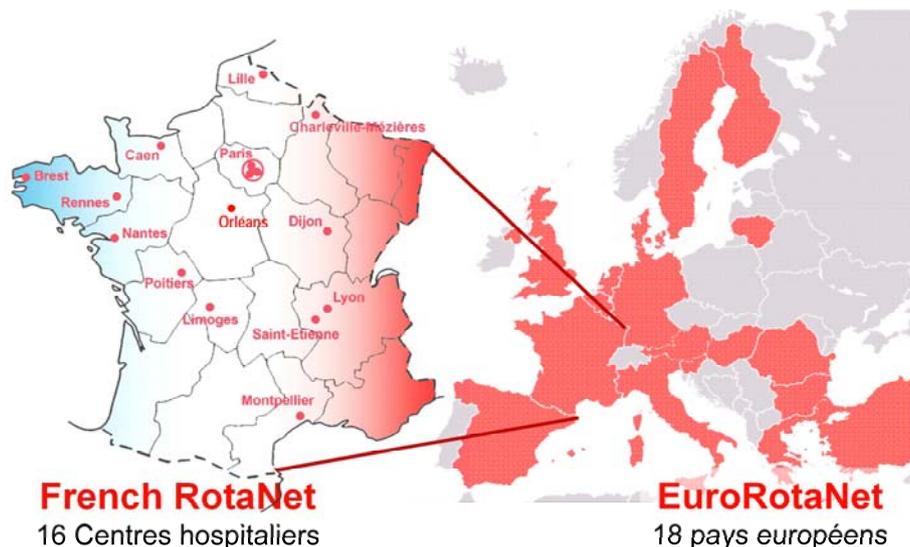


Figure 3 : Répartition des centres participant à l'étude rotavirus en milieu pédiatrique

3.1.2. Bilan de la surveillance des saisons 2006-2014

Seize centres participent à cette étude depuis 2006 et **13 centres ont envoyé des prélèvements durant la saison 2013-2014**. Tous les prélèvements parvenus ont été analysés.

Au total, nous avons reçu et analysé **1148 prélèvements durant la saison 2013-2014 (soit 6949 souches de rotavirus « génotypées » entre 2006 et 2013)**.

3.1.2.1. Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus :

- Les infections à rotavirus sont saisonnières et surviennent durant les mois d'hiver. Cependant les résultats de notre étude européenne (réseau EuroRotaNet) montrent un gradient Sud-Nord et Ouest-Est avec un pic d'infections plus précoce en Espagne (décembre à février) et plus tardif (avril-mai) dans les pays du nord et de l'est de l'Europe. **En France, le pic des infections de la saison 2013-2014 est apparu en mars et les trois mois durant lesquels il y avait le plus de prélèvements positifs étaient février-mars-**

avril. Ce fut également le cas la saison dernière et c'est aussi ce que l'on observe sur les résultats compilés des saisons 2006 à 2014 (figure 4). Globalement il y a peu de différence d'une année à l'autre puisque le pic des infections est en mars cinq saisons sur huit (2 autres en février et 1 en avril pour les autres saisons) et les mois les plus importants sont février à avril pour cinq saisons et janvier à mars pour les trois autres.

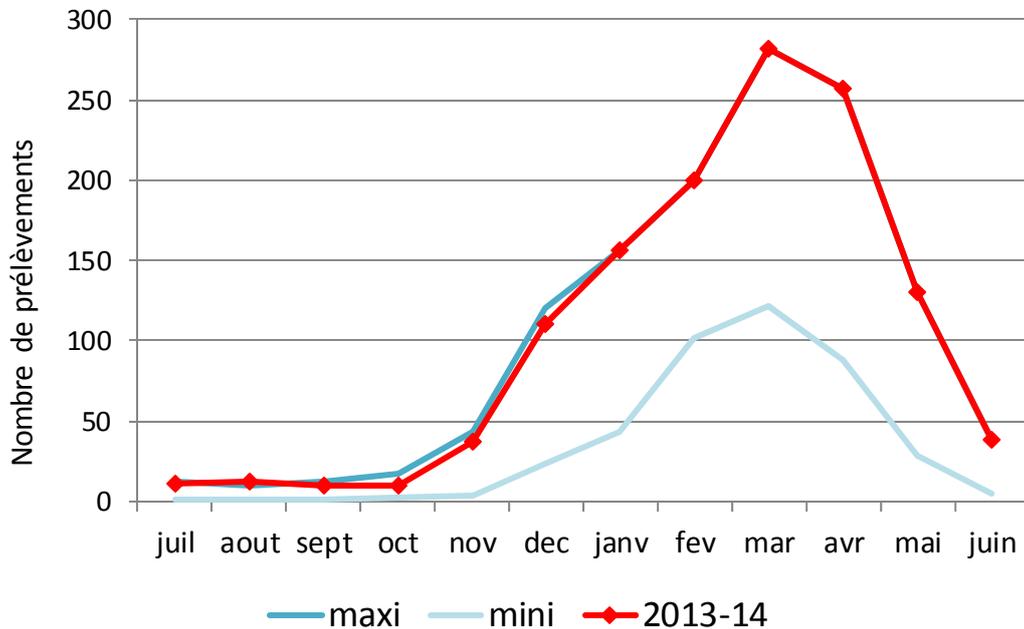


Figure 4 : Distribution temporelle des infections à rotavirus pour la saison 2013-2014 comparée aux maximums et minimums des saisons précédentes.

- Les données hebdomadaires de détection des rotavirus du groupe A ont été collectées auprès de la majorité de laboratoires hospitaliers participant à notre réseau national de surveillance des souches de rotavirus du groupe A. Afin d'étudier les caractéristiques des épidémies à rotavirus en France, nous avons modélisé le nombre de rotavirus détectés par cinq de ces laboratoires hospitaliers (Dijon, Limoges, Montpellier, Nantes et Paris-Necker) sur la période 2000-2014.

Au total, 65879 recherches de rotavirus ont été réalisées par ces cinq laboratoires, dont 7160 se sont révélées positives. Les analyses statistiques indiquent que la saisonnalité des infections à rotavirus est nettement marquée au cours de la période hivernale (Figure 5, 2^{ème} graphique) mais que le nombre d'infections à rotavirus n'est pas constant d'une année à une autre car il tend à décroître au cours du temps (Figure 5, 3^{ème} graphique). On peut noter également la survenue probable d'une importante épidémie en fin d'année 2005, soit l'hiver suivant l'émergence national des souches de rotavirus de génotype G9 (Figure 5, 1^{er} et 3^{ème} graphiques). Enfin, l'étude des épidémies annuelles en fonction des centres montre des différences significatives d'amplitude et d'acrophase entre le centre parisien et les centres de province se traduisant par un pic d'infection à rotavirus plus précoce à Paris.

Ces résultats préliminaires seront complétés par une analyse de l'âge des patients et par une modélisation basée sur la proportion de prélèvements positifs à rotavirus.

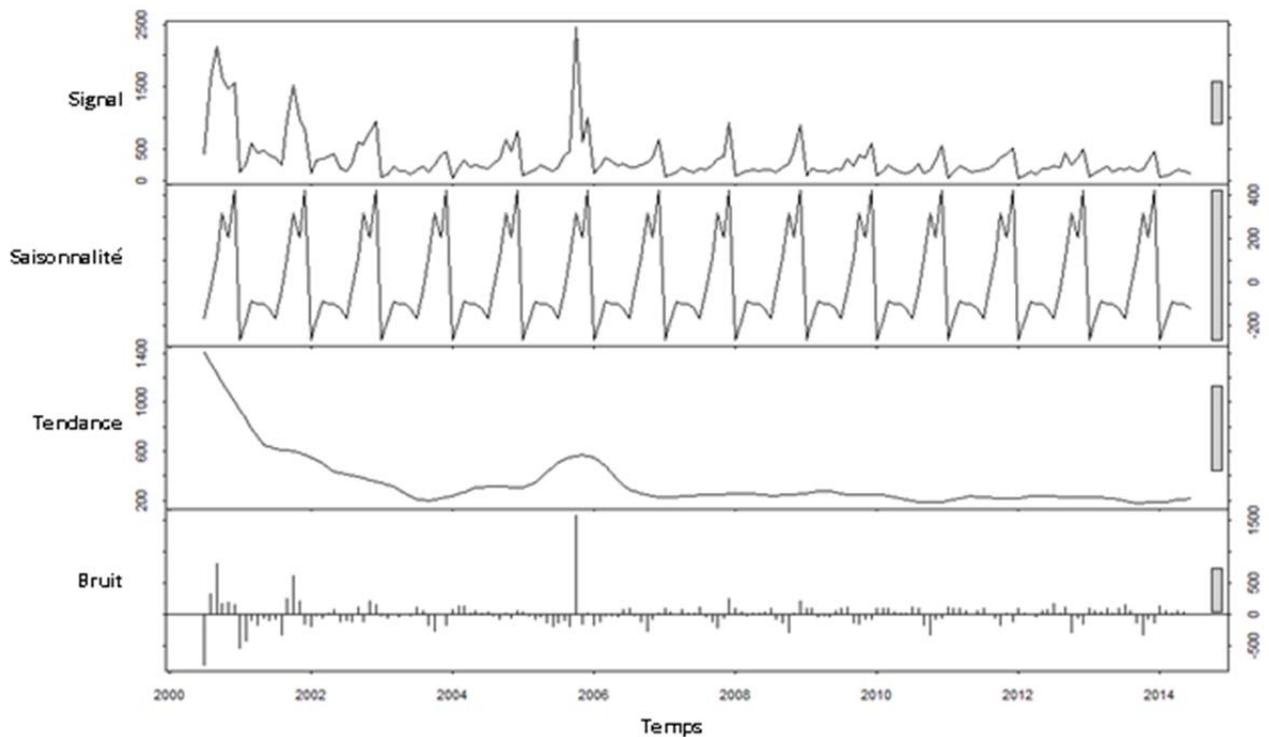


Figure 5 : Détection des rotavirus au cours du temps (2000 à 2014) par les laboratoires hospitaliers de Dijon, Limoges, Montpellier, Nantes et Paris-Necker.

3.1.2.2. Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P :

Résultats obtenus en France (figures 6) :

Bilan 2006-2014 : Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2012-2013 est de **6949 souches de rotavirus** totalement ou partiellement caractérisées (figure 6a et tableau 4). Les six principales combinaisons de génotypes G/P (>1%) ont été durant ces cinq années : **G1P[8] (60,4%) suivie de G9P[8] (15,4%), cumulant à elles seules 75,8% des souches détectées, puis G2P[4] (6,2%) et G3P[8] (8,2%)** Les autres combinaisons d'importance significative étaient **G4P[8] (2,6%) et G12P[8] (1,3%)**. Ainsi, les 4 combinaisons génotypiques classiques et incluses dans un des vaccins (G1P[8]/G2P[4]/G3P[8] et G4P[8]) représentaient environ 77,4% des souches « génotypées ». Le « nouveau » génotype **G9P[8] représente le deuxième génotype** en terme de fréquence. Sa fréquence fluctue d'une année sur l'autre (figure 9).

Les **génotypes ou combinaisons atypiques** représentent **2%** et les infections mixtes **1,8%**.

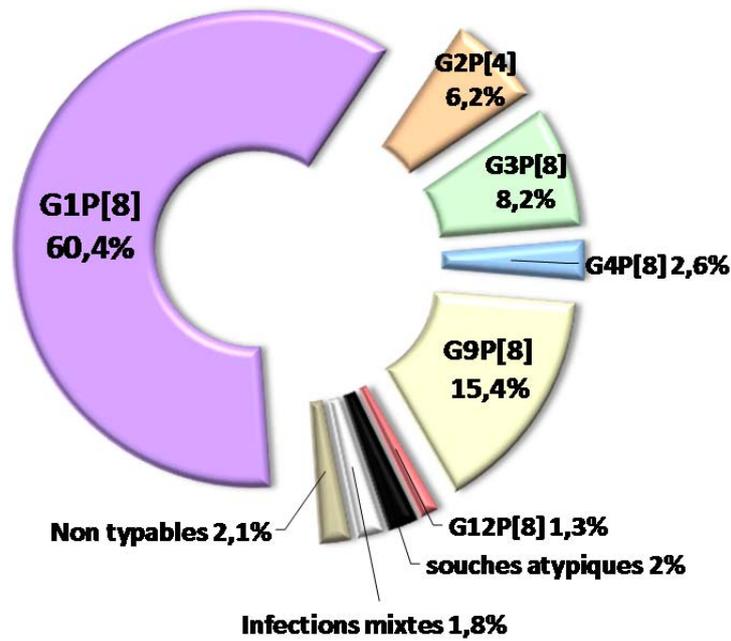


Figure 6a : Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant l'ensemble de la surveillance 2006-2014 (6949 souches).

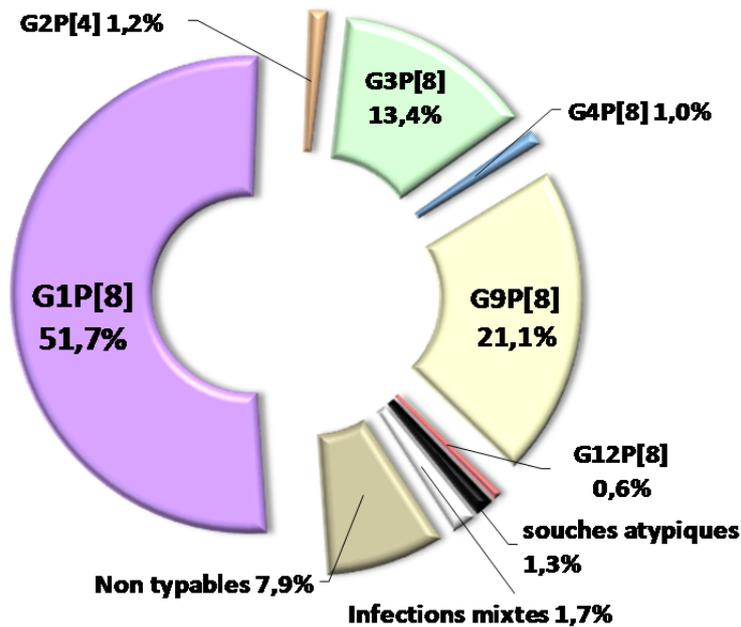


Figure 6b : Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant la saison 2013-2014 (1148 souches).

Saison 2013-2014 (figure 6b et tableau 4):

En comparaison avec l'étude globale, les résultats importants de cette dernière saison sont :

- 1) Le génotype G1P[8] reste – et de loin – le génotype le plus fréquemment détecté (51,7%).

2) Les autres génotypes importants sont :

- a. G9P[8] (21,1%), ce génotype redevient le deuxième en terme de fréquence.
- b. G3P[8] est également fréquent cette année (13,4%) comme la saison précédente.

3) G12P[8] est rarement détecté cette saison.

L'augmentation du nombre de souches non-typables est liée à des modifications de nos méthodes de détection et ne reflète pas – a priori – l'émergence de souches atypiques. Ces méthodes plus sensibles entraînent une augmentation des prélèvements positifs sans que l'on puisse y caractériser le rotavirus présent.

Les résultats obtenus en Europe, 2006-2012 (figure 7)

Les résultats globaux ne sont disponibles que pour les saisons 2006 à 2012. Ils sont sensiblement différents de ceux observés en France pour 2 combinaisons génotypiques. Le génotype **G9P[8]** a été, durant ces six années, plus fréquent en France que dans l'ensemble des pays européens participant à l'étude, 14,5% en France contre 11,1% pour l'ensemble. Au contraire, le génotype **G4P[8]** est moins fréquent en France, 3,0% contre 15,4%. Par contre, le génotype G1P[8] est largement prédominant, même si sa fréquence est un peu moindre.

Par ailleurs, les résultats de la saison 2011-2012 montrent les mêmes tendances que celles mentionnées en France ces deux dernières saisons, **une diminution de la fréquence du génotype G9P[8] et l'émergence du génotype G12P[8]**. Mais ces résultats globaux ne reflètent pas l'extrême diversité d'un pays à l'autre (figure 11).

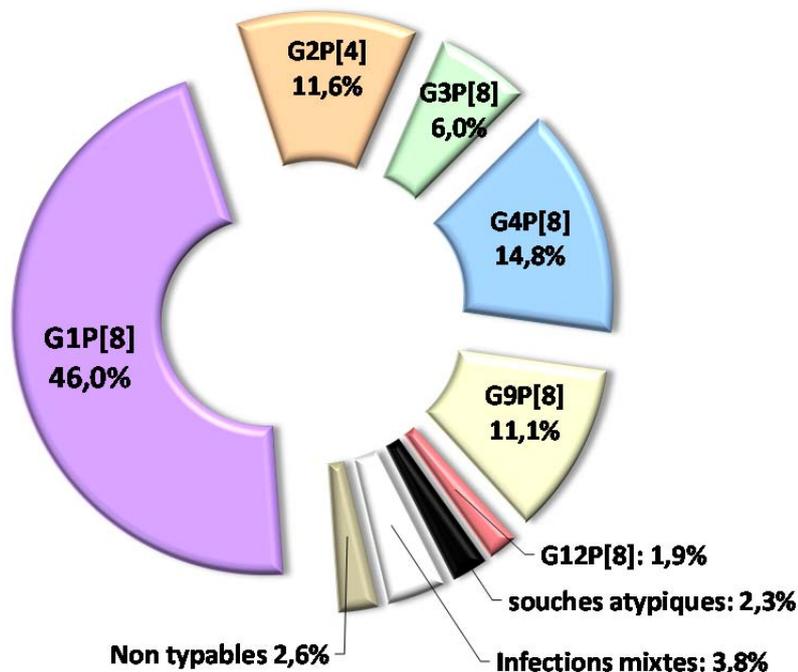


Figure 7 : Distribution des combinaisons génotypiques des rotavirus détectés en Europe durant l'ensemble de la surveillance 2006-2012.

3.1.2.3. Analyse séparée de la répartition des génotypes G ou P :

L'analyse séparée des **génotypes G** (tableau 4 et figure 8a et 8b) montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France en 2012-2013 ont été **G6** (0,3%) et **G12** (0,6%). Aucun génotype G5, G8 ou G10 n'a été caractérisé durant la saison 2013-2014.

	Nombre de souches détectées					
	2006-2013 n = 5801 (%)		2013-2014 n = 1148 (%)		2006-2014 n = 6949 (%)	
Génotypes G (incluant les infections mixtes)						
G1	3652	63,0	597	52,0	4249	61,1
G2	449	7,7	19	1,7	468	6,7
G3	429	7,4	161	14,0	590	8,5
G4	177	3,1	13	1,1	190	2,7
G6	10	0,2	4	0,3	14	0,2
G8	13	0,2	0	0,0	13	0,2
G9	841	14,5	244	21,3	1085	15,6
G10	1	0,0	0	0,0	1	0,0
G12	84	1,4	7	0,6	91	1,3
G-NT	46	0,8	82	7,1	128	1,8
G1 + G2	12	0,2	0	0,0	12	0,2
G1 + G3	12	0,2	7	0,6	19	0,3
G1 + G4	7	0,1	1	0,1	8	0,1
G1 + G6	4	0,1	0	0,0	4	0,1
G1 + G9	43	0,7	4	0,3	47	0,7
G1+G12	1	0,0	0	0,0	1	0,0
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	0,0	0	0,0	2	0,0
G3 + G4	1	0,0	1	0,1	2	0,0
G3 + G9	12	0,2	8	0,7	20	0,3
G4 + G9	3	0,1	0	0,0	3	0,0
Génotypes P						
P[3]	1	0,0	0	0,0	1	0,0
P[4]	475	8,2	16	1,4	491	7,1
P[6]	40	0,7	6	0,5	46	0,7
P[8]	5215	89,9	1064	92,7	6279	90,4
P[9]	2	0,0	3	0,3	5	0,1
P[14]	9	0,2	0	0,0	9	0,1
P-NT	38	0,7	59	5,1	97	1,4
P[4]+P[8]	21	0,4	0	0,0	21	0,3

Tableau 4 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2014 et durant la saison 2013-2014. (NT = souches non génotypées).

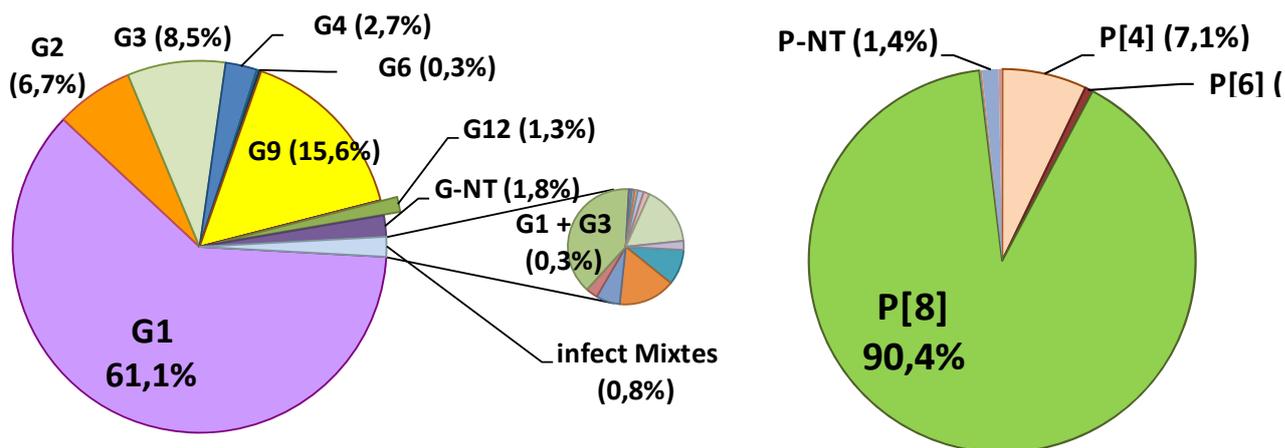


Figure 8a : Distribution des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2014.

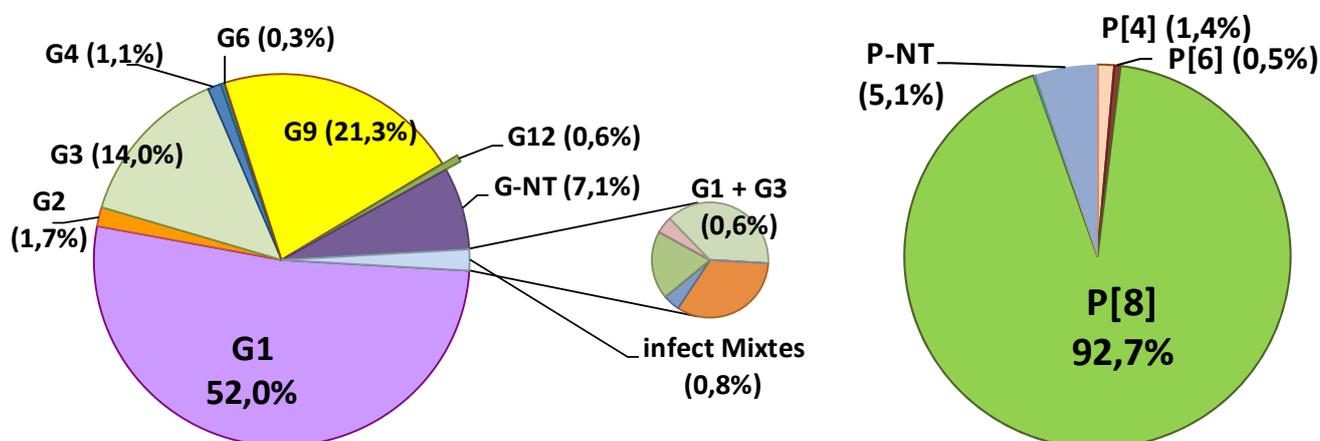


Figure 8b: Distribution des génotypes G et P détectés en France durant la saison 2013-2014.

Le fait marquant de cette saison 2013-2014 est la **fréquence élevée des rotavirus de génotype G9** (244 prélèvements (21,3%) contre 61prélèvements (6,2%) l'année précédente). Le **génotype G12** (7 prélèvements (0,6%) contre 35 (3,6%) l'année précédente) ne semble pas émerger en France, alors que sa fréquence augmentait d'année en année. Cette émergence du génotype G12P[8] était observée dans toute l'Europe mais avec des différences selon les pays. L'Espagne est le pays où cette émergence a été la plus marquée (figure 11b).

Les **génotypes P** (tableau 4 et figures 8a et 8b) sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** (globalement 90,4% et 92,7% en 2013-2014), alors que le génotype **P[4]** représente globalement 7,1% et 1,4% cette dernière saison. Ce résultat concernant le génotype P[4] est à considérer dans le suivi des effets de la vaccination (en particulier avec le vaccin Rotarix® constitué d'une souche G1P[8] atténuée). Entre 2006 et 2014, les génotypes atypiques en France étaient représentés par **P[3], P[6], P[9] et P[14]** : 61 souches soit 0,9% des 6949 souches. Durant la saison 2013-2014 nous avons détecté les **génotypes P[6] (6 souches) et P[9] (3 souches) soit moins de 0,8% des souches**.

La constance de la prévalence du génotype P[8] entre 2006 et 2014 est rassurante et à souligner pour l'efficacité de la vaccination puisque les deux vaccins commercialisés possèdent cette valence antigénique dans leur composition.

3.1.2.4. Variations temporo-spatiales des combinaisons de génotypes G/P

3.1.2.4.1. Variations des génotypes G/P entre 2006-2014 (figure 9) :

o Evolution des génotypes G/P « classiques » :

L'évolution des génotypes G/P durant cette période de surveillance est marquée par :

1. La **prédominance du génotype G1P[8]** (entre 52,9 et 73,2% ; 51,7% en 2013-2014). 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.
2. **Génotype G9P[8]** : après sa brutale émergence en 2004-2005 (65%), sa fréquence diminuait régulièrement de 25% à 6% en 2012-2013. Sa réapparition à un taux élevé (21,1%) cette saison 2013-2014 soulève des questions quant à son évolution. Il sera important de comparer nos résultats à ceux obtenus en Europe, l'émergence brutale observée en 2004-2005 avait été un phénomène observé dans toute l'Europe.
3. **Génotype G12P[8]** : son émergence récente (2011-12 : 4,2% et 2012-2013 : 3%) laissait penser qu'il deviendrait l'un des six génotypes importants en France. En 2013-2014 ce génotype a été très rarement détecté (7 souches soit 0,6%).
4. Les autres génotypes **G2P[4]**, **G3P[8]** et **G4P[8]** évoluent de façon cyclique selon les saisons : G2P[4] (entre 1,6 et 17,1%) ; G3P[8] (entre 1,6 et 18,8%) ; G4P[8] (entre 0,3 et 7,3%). Les différences avec le tableau 1 s'expliquent par le fait que ce dernier ne prend pas en compte les combinaisons de génotypes G et P.

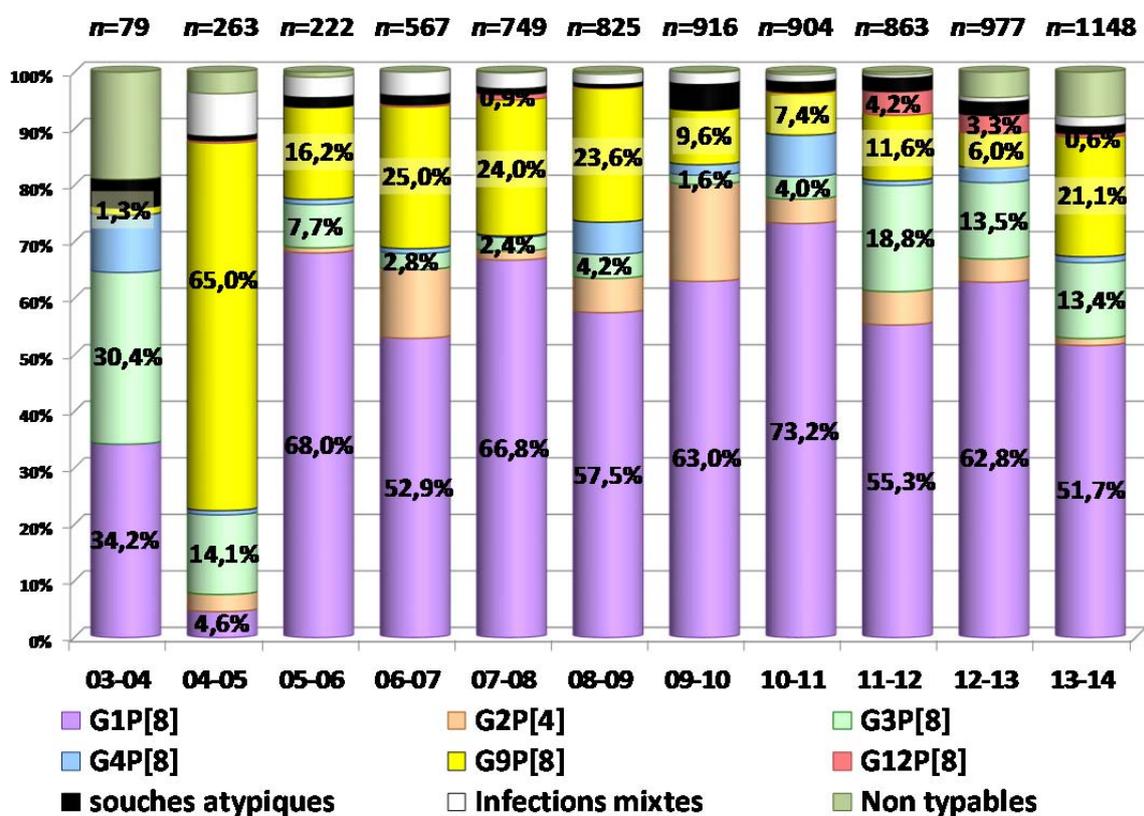


Figure 9 : Evolution des combinaisons de génotypes G/P de rotavirus en France entre 2003 et 2014. La période 2003 à 2006 est une étude limitée. Sa présentation sur cette figure a pour but de montrer la brusque émergence du génotype G9 lors de la saison 2004-2005.

o **Génotypes ou combinaisons atypiques :**

- En dehors du génotype G12P[8], décrit précédemment dans les souches dites « classique », **les génotypes atypiques** sont des combinaisons associant l'un des génotypes **G6, G8, G10, P[3], P[6], P[9] et P[14]**. **Sur l'ensemble de l'étude elles représentent 65 souches (environ 1%) et 9 souches (0,8%) en 2013-2014.** Parmi ces génotypes inhabituels, le génotype P[6] est le plus important (46 souches au total dont 10 en 2012-2013 et 6 en 2013-2014). Certaines de ces souches peuvent être d'origine animale.
- **Les combinaisons atypiques**, par exemple G2 associé à P[8] ou G1, G3, G4, G9 ou G12 associé à P[4] représentent environ 1% des souches sur l'ensemble de l'étude et 0,6% sur la dernière saison (7 combinaisons atypiques durant la saison 2012-2013).

Ainsi les souches ou combinaisons atypiques sont stables tout au long de l'étude, l'augmentation notée la saison 2003-2004 était liée à l'inclusion de G12 parmi ces génotypes.

3.1.2.4.2. Variabilité géographique des génotypes de rotavirus :

Nous avons montré dans les précédents rapports qu'il existait **une variabilité géographique, selon les centres (figure 10)**. Nous retrouvons lors de cette saison 2012-2013 une variabilité géographique assez marquée. Elle concerne tous les génotypes, notamment les génotypes G9P[8] et G3P[8] particulièrement fréquents dans certains centres géographiquement éloignés (Charleville, Saint-Etienne pour G9P[8] ; Dijon et Rennes pour G3P[8]). Pour le génotype G12P[8], quelques souches ont été détectées dans 4 centres (Brest, Montpellier, Paris-Trousseau et Saint-Etienne).

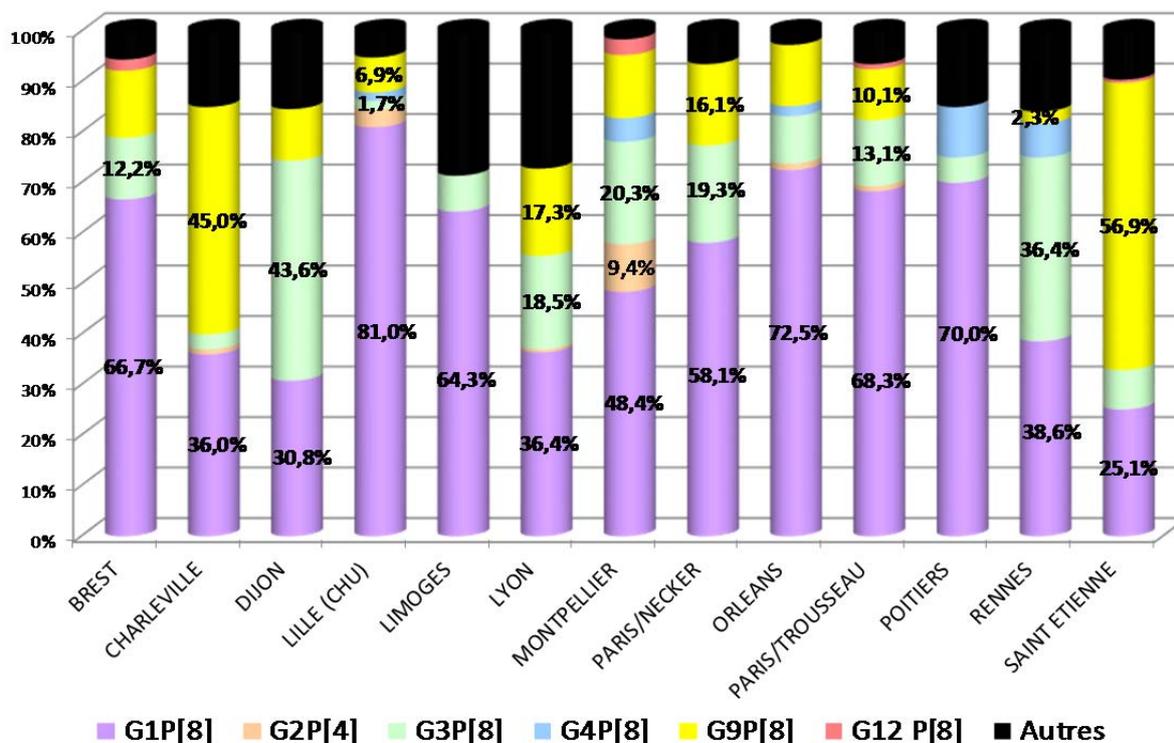


Figure 10 : Distribution des génotypes en France selon les centres durant la saison 2013-2014.

La variabilité géographique en Europe dans les pays participant au réseau est également très marquée (figure 11a). Le génotype G1P[8] est prédominant sauf en Autriche, Belgique

et Bulgarie. La fréquence du génotype G2P[4] varie beaucoup atteignant , elle est importante en Autriche, Belgique et Bulgarie. La vaccination est recommandée et remboursée depuis plusieurs années dans les deux premiers pays avec une excellente couverture vaccinale. Cependant, il est difficile à ce jour d'en tirer des conclusions quant à la responsabilité de cette vaccination dans la sélection de ce génotype moins bien contrôlé par le vaccin monovalent Rotarix™. La Belgique, effectivement, utilise essentiellement ce vaccin monovalent, L'Autriche a utilisé alternativement selon les années le vaccin monovalent ou le pentavalent (RotaTeq®), la Bulgarie a une faible couverture vaccinale. La Finlande est le troisième pays européen où la vaccination est implantée depuis plusieurs années avec une excellente couverture vaccinale ; il s'agit principalement du vaccin pentavalent.

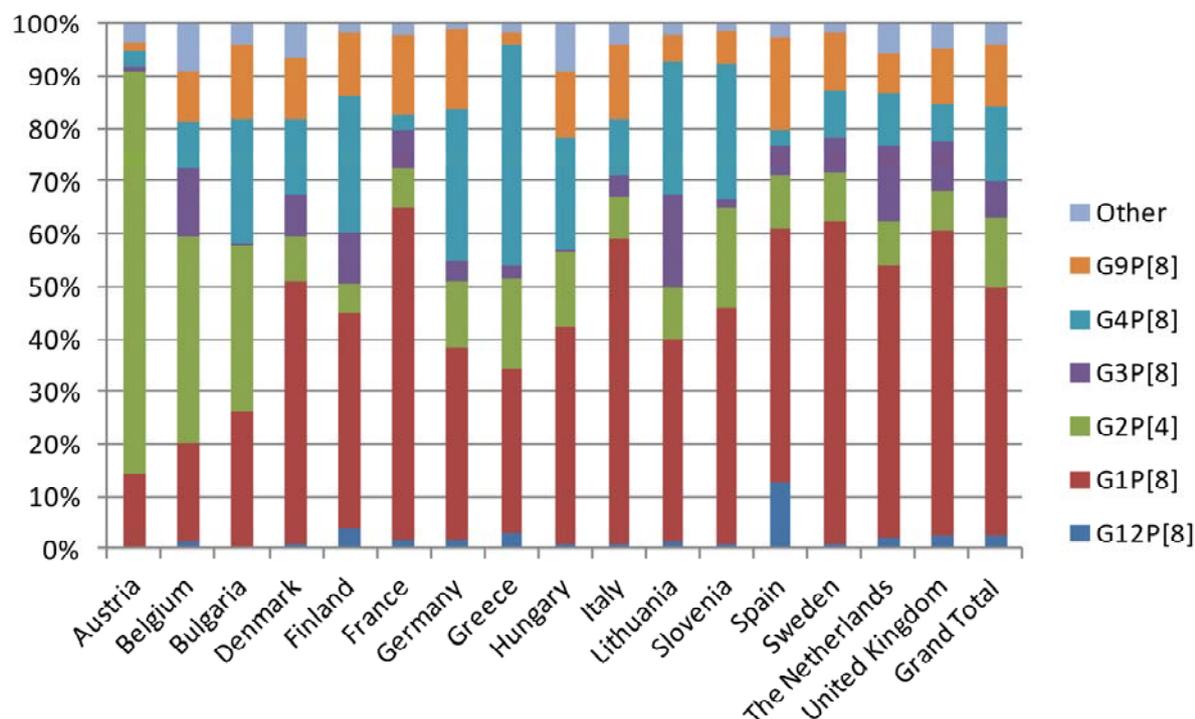


Figure 11a : Distribution globale des génotypes de rotavirus en Europe selon les pays participant au réseau EuroRotaNet depuis 2006 jusqu'à 2013 (n = 47549).

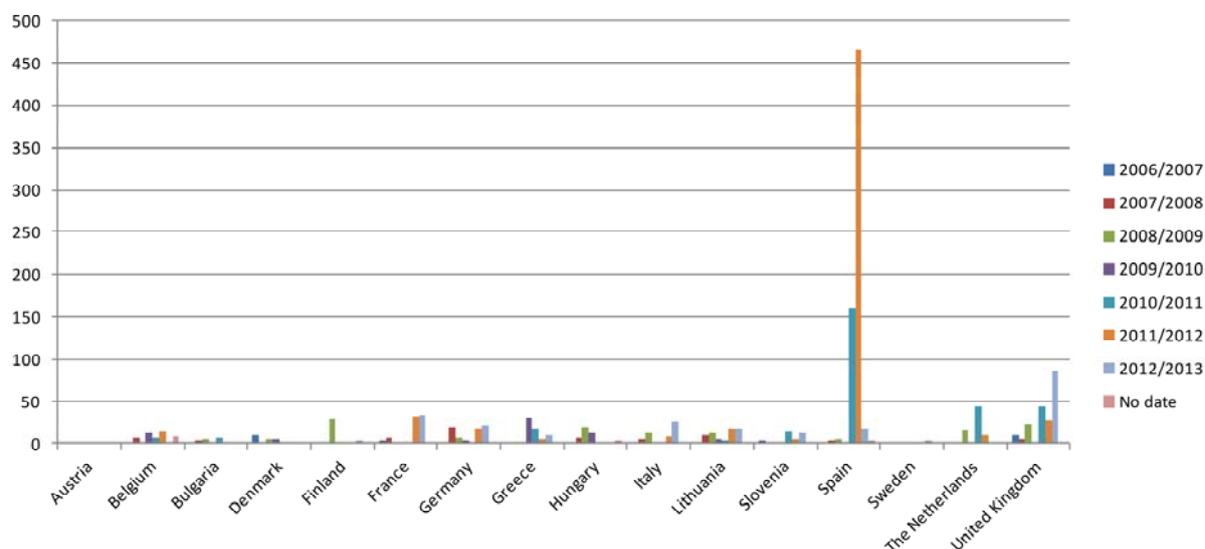


Figure 11b : Distribution des génotypes G12 en Europe selon les saisons hivernales entre 2006 et 2013 (n = 1451).

Globalement, la fréquence du génotype G12P[8] est comparable en France, Allemagne, Belgique et Royaume-Uni. Elle est beaucoup plus importante en Espagne, mais lorsque l'on suit l'évolution de la fréquence de ce génotype G12 au cours des saisons, on constate une diminution de la circulation de ce génotype dans tous les pays européens lors de la saison 2012-2013.

3.1.3. 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 distribution saisonnière des épidémies de gastro-entérites à rotavirus s'étale en France principalement entre décembre et avril avec de faibles variations selon les saisons. Par contre, il semble exister une différence entre les centres parisiens, où les épidémies commenceraient plus tôt, dès décembre, suivi par les autres centres de province de février à avril.
- Répartition des génotypes des rotavirus
 - La **large prédominance du génotype G1** à l'exception de la saison 2004-2005.
 - **L'émergence de nouveaux génotypes :**
 - Le **génotype G9** est devenu, depuis la saison 2004-2005, un génotype « classique » avec G1, G2, G3 et G4.
 - **L'émergence dès la saison 2011-2012 du génotype G12**, globalement moins brutale que celle du génotype G9, représentait en France environ 4% des souches avec des différences significatives selon les centres, et selon les pays pour l'étude européenne. Ce génotype reste marginal en France, nos résultats devront être comparés aux autres pays européens. Les résultats de la saison 2012-2013 présentés dans la figure 11b semblent montrer une diminution générale de ce génotype. Elle demande à être confirmée pour la saison 2013-2014.
 - La **variation cyclique des génotypes G2, G3 et G4**. Le génotype G2P[4] doit cependant être plus particulièrement suivi dans les pays où la couverture vaccinale est élevée, principalement avec le vaccin monovalent.
 - La stabilité de la fréquence des souches inhabituelles (notamment le génotype P[6]) et l'existence, parmi celles-ci, de **souches d'origine animale** infectant les enfants de cette étude.
- Outre cette variabilité saisonnière des génotypes, il existe une très **grande variabilité géographique**. Variabilité selon les centres en France et quelle que soit la saison – 2013-2014 comme les précédentes. Cette variabilité est également retrouvée au niveau des pays européens.

3.2. SURVEILLANCE DES CAS GROUPES DE GASTRO-ENTERITES

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 Anne-Marie ROQUE-AFONSO) 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

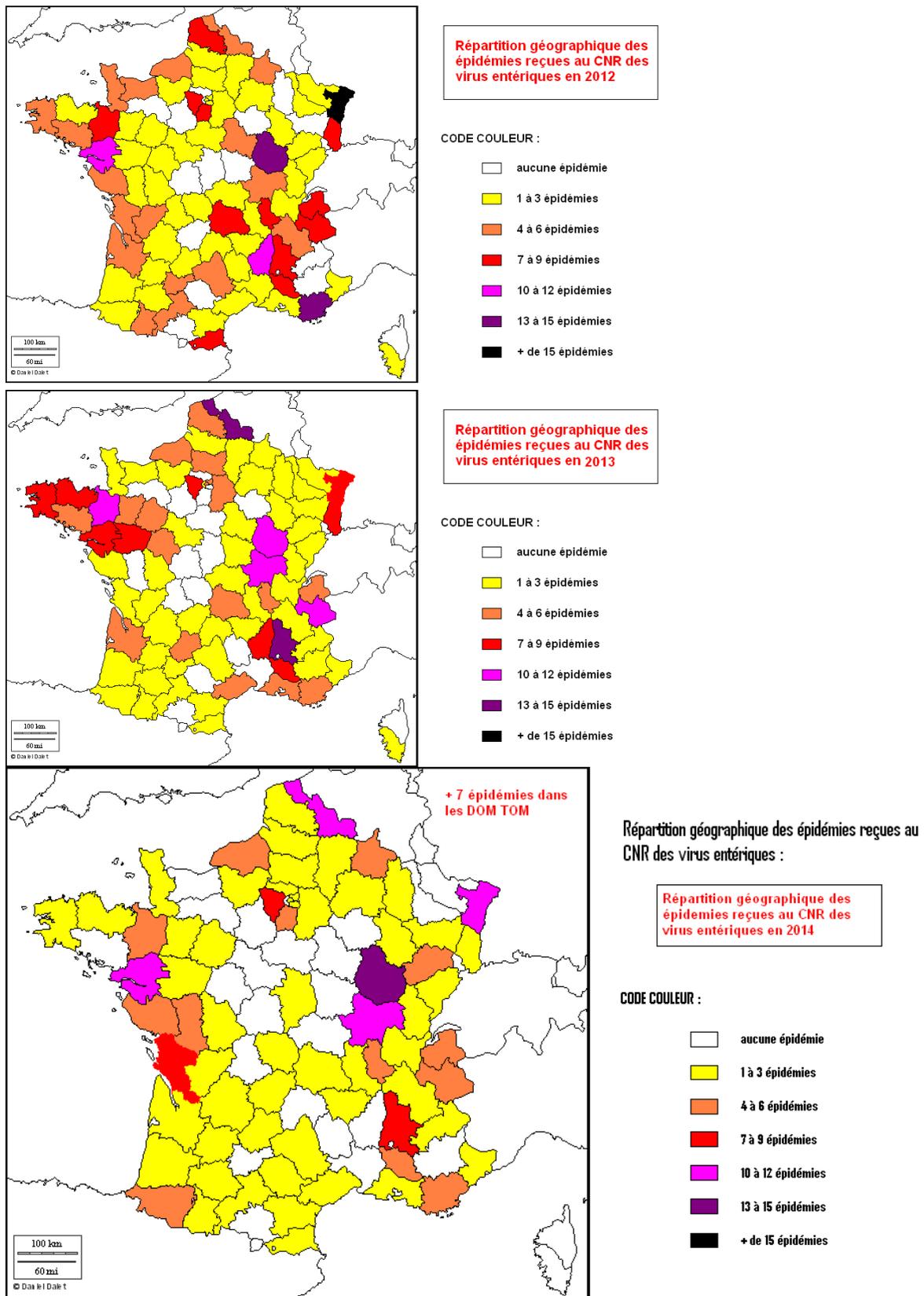


Figure 12 : Répartition géographique des épidémies reçues durant les années 2012, 2013 et 2014. Sur les cinq dernières années, la plupart des départements nous ont envoyé des prélèvements au moins une fois.

3.2.3. Caractéristiques des épidémies (2008 – 2014)

3.2.3.1. Nature et évolution des épidémies

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

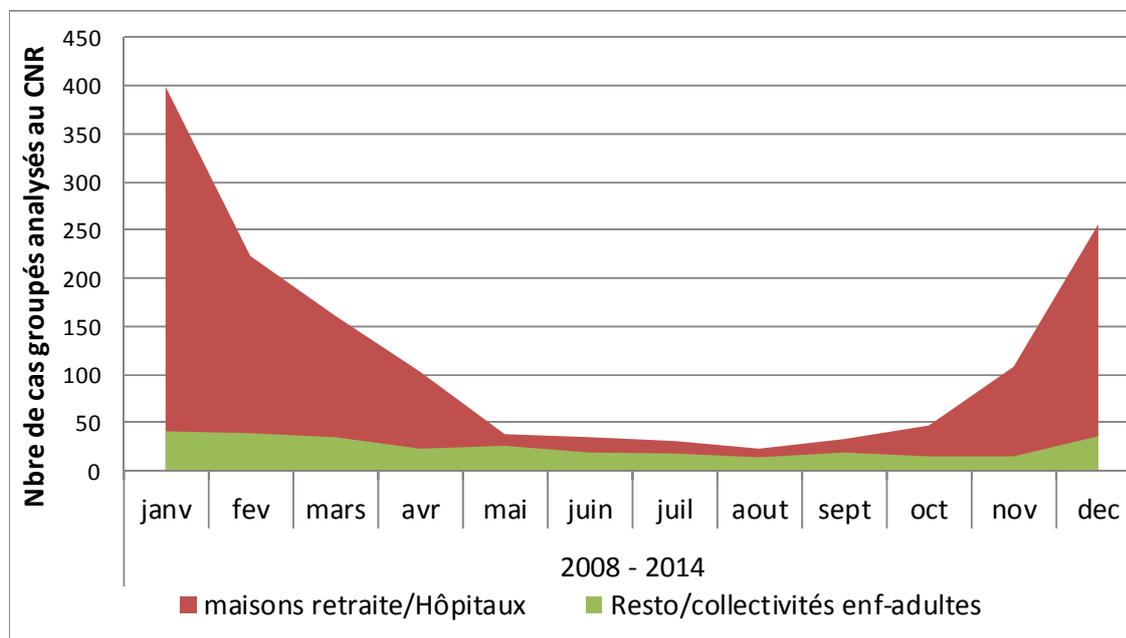


Figure 13 : Environ 75% des épidémies analysées au CNR sont survenues entre **novembre et mars**.

Cette forte saisonnalité hivernale concerne uniquement les épidémies survenant en établissements de soins, mais pas celles survenant en collectivités ou dans les restaurants. Elle est notée pour toutes les années de la période étudiée y compris l'année 2014.

3.2.3.2. Sites et modes de transmission (2008 à 2014)

- **Mode de transmission** (Tableau 5 et figures 14a et b, figure 15) : Durant cette période 2008-2014, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour 641 épidémies (37,3%). Le mode de transmission de personne à personne est incriminé dans 761 épidémies (44,3%). Une origine alimentaire était à l'origine de 297 épidémies (17,3%) et une origine hydrique a été trouvée pour 12 épidémies (1,1%).

Respectivement pour 2014 : Origine inconnue pour 47 épidémies (19,4%), personne à personne pour 147 (60,7%), alimentaire pour 44 (18,2%), et 4 épidémies d'origine hydrique.

- **Site ou établissement** (Tableau 5 et figures 14a et b, figures 16) : La grande majorité des 1718 épidémies recensées **entre janvier 2008 et décembre 2014** est survenue dans des établissements pour personnes âgées ou maisons de retraites : 1193 épidémies soit 69,4%. Les autres sites sont des services hospitaliers (212 épidémies : 12,3%), des réceptions ou banquets (145 épidémies : 8,5%), des écoles (114 épidémies : 6,6%) et 36 épidémies sont survenues dans des collectivités d'adultes (2,1%) et 18 dans des communes (1%). **Le nombre d'épidémies par saison est très lié à l'émergence d'un nouveau variant, l'exemple en est l'épidémie de la saison 2012-2013 due à ce nouveau variant GII.4 2012 ou Sydney que l'on peut comparer à l'épidémie de la saison suivante, beaucoup plus**

modeste (Figures 15 et 16). *L'impact d'un nouveau variant est net pour les épidémies survenant en maisons de retraite ou dans les hôpitaux, nettement moins important pour les cas groupés survenant dans les autres sites (centres pour adultes ou enfants, réceptions et dans les communes.*

Respectivement pour 2014 (total 242 épidémies) : 146 épidémies en EHPAD (60,3%), 35 en hôpital (14,5%), 25 lors de réceptions (13%), 23 dans des centres pour enfants ou écoles (9,5%), 5 épidémies en centres pour adultes (2%) et 7 épidémies dans des communes ou regroupement de communes.

- **Saisonnalité selon le site** : Sur l'ensemble de cette surveillance nous avons noté une différence entre les sites. *Pour les épidémies survenant en établissements pour personnes âgées ou d'hospitalisation il existe une forte saisonnalité dans la survenue des épidémies que l'on ne retrouve mais pour les collectivités pour enfants ou adultes et les restaurants* (figure 13). Cette différence dans la saisonnalité des épidémies est inchangée depuis la mise en place de notre surveillance.

Pour la quasi-totalité des épidémies (2008 à 2014) provenant de maisons de retraite ou des services hospitaliers le mode de transmission est de personne-à-personne (51%) ou non connu (environ 43%). **L'origine alimentaire est toutefois retrouvée dans environ 6% des épidémies survenant en maison de retraite ou en services hospitaliers** (tableau 5 et figures 14a et 14b).

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.

Mode de contamination					
2008-2014	pers à pers	inconnu	aliments	eau	Total
EHPAD	608	512	69	4	1193
hôpitaux	102	94	16	0	212
réception	5	6	133	1	145
centres adultes	6	9	21	0	36
centres enfants	36	19	57	2	114
commune	4	1	1	12	18
Total	761	641	297	19	1718
2014	pers à pers	inconnu	aliments	hydrique	Total
EHPAD	109	25	12	0	146
hôpitaux	19	14	2	0	35
réception	3	3	19	0	25
centre adultes	0	1	4	0	5
centre enfants	12	3	7	1	23
commune	4	1	0	3	8
Total	147	47	44	4	242

Tableau 5 : Répartition des épidémies selon le site et le mode de contamination. Les observations rapportées pour 2014 ne sont pas significativement différentes de celles des années antérieures (2008 à 2014) (tableau 5 et figures 14). Le mode de contamination était mieux précisé que les années précédentes (inconnu = 19,% contre 37,3% de 2008 à 2014)

Figures 14 à 16 : Répartition des épidémies selon le mode de contamination et le site.

Figures 14a et b : bilan de l'activité du CNR entre 2008 et 2014

Figures 15 et 16 : Evolution de cette activité depuis la saison 2009/2010 à 2014/2015.

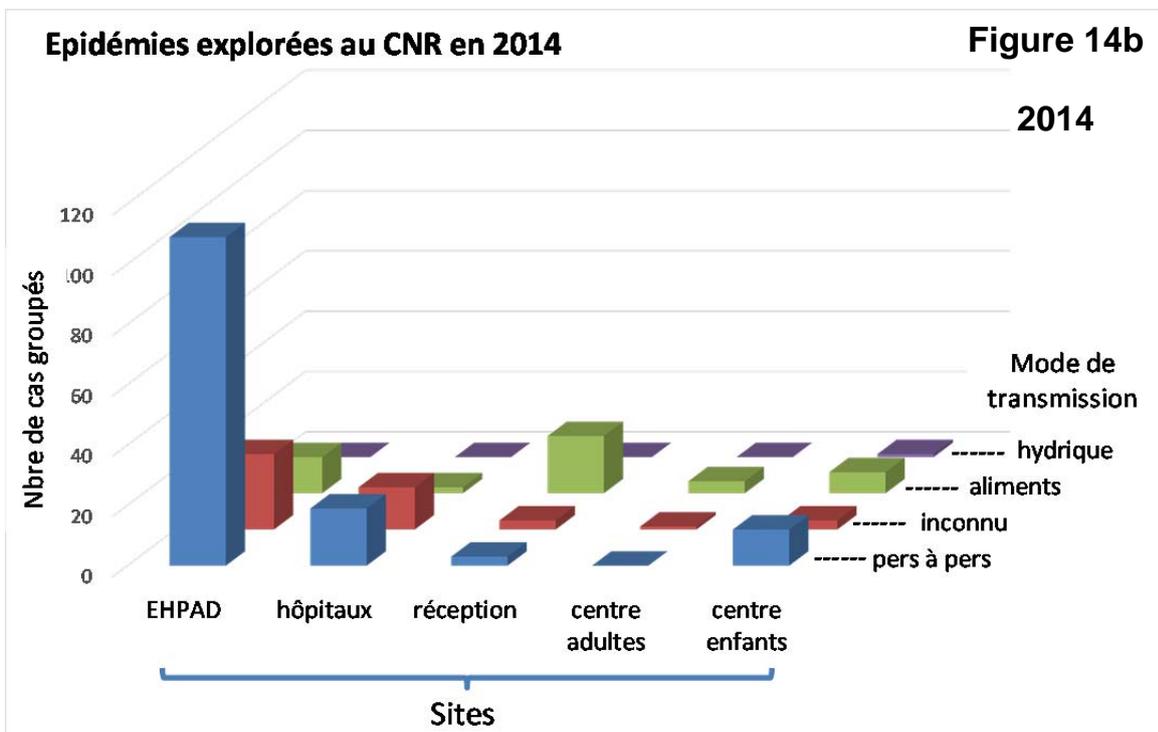
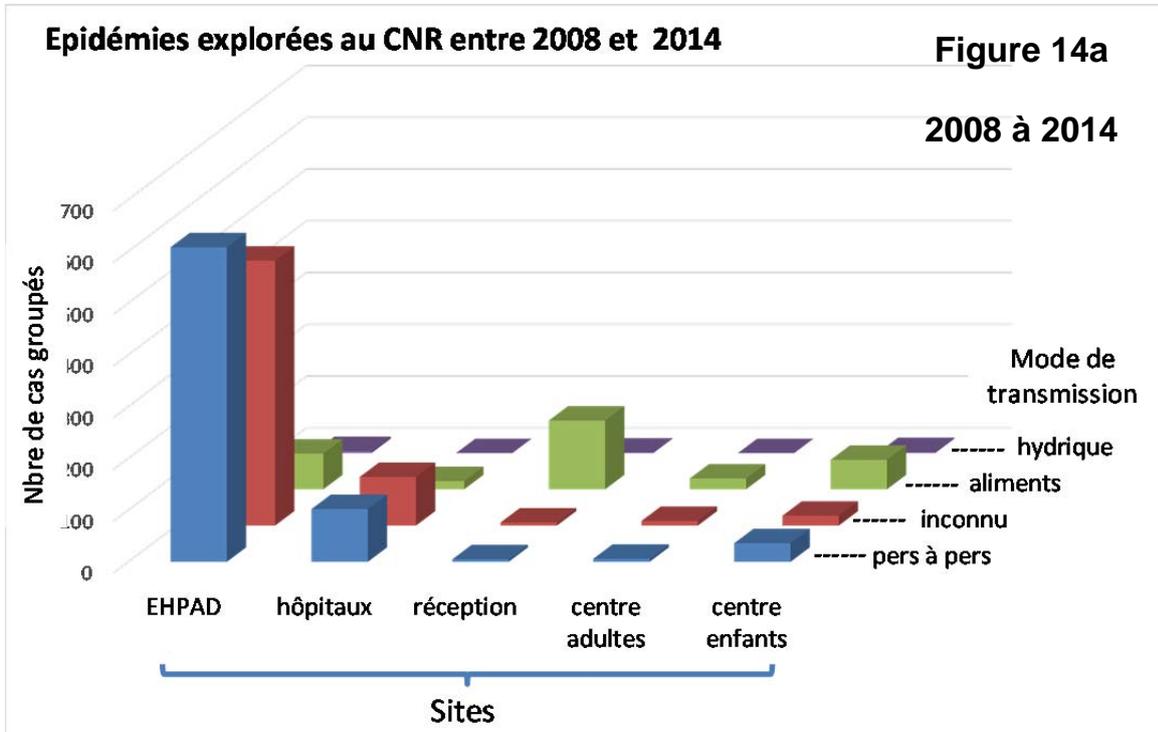


Fig 15: Transmission des épidémies de gastroentérites en collectivités entre 2008-2014

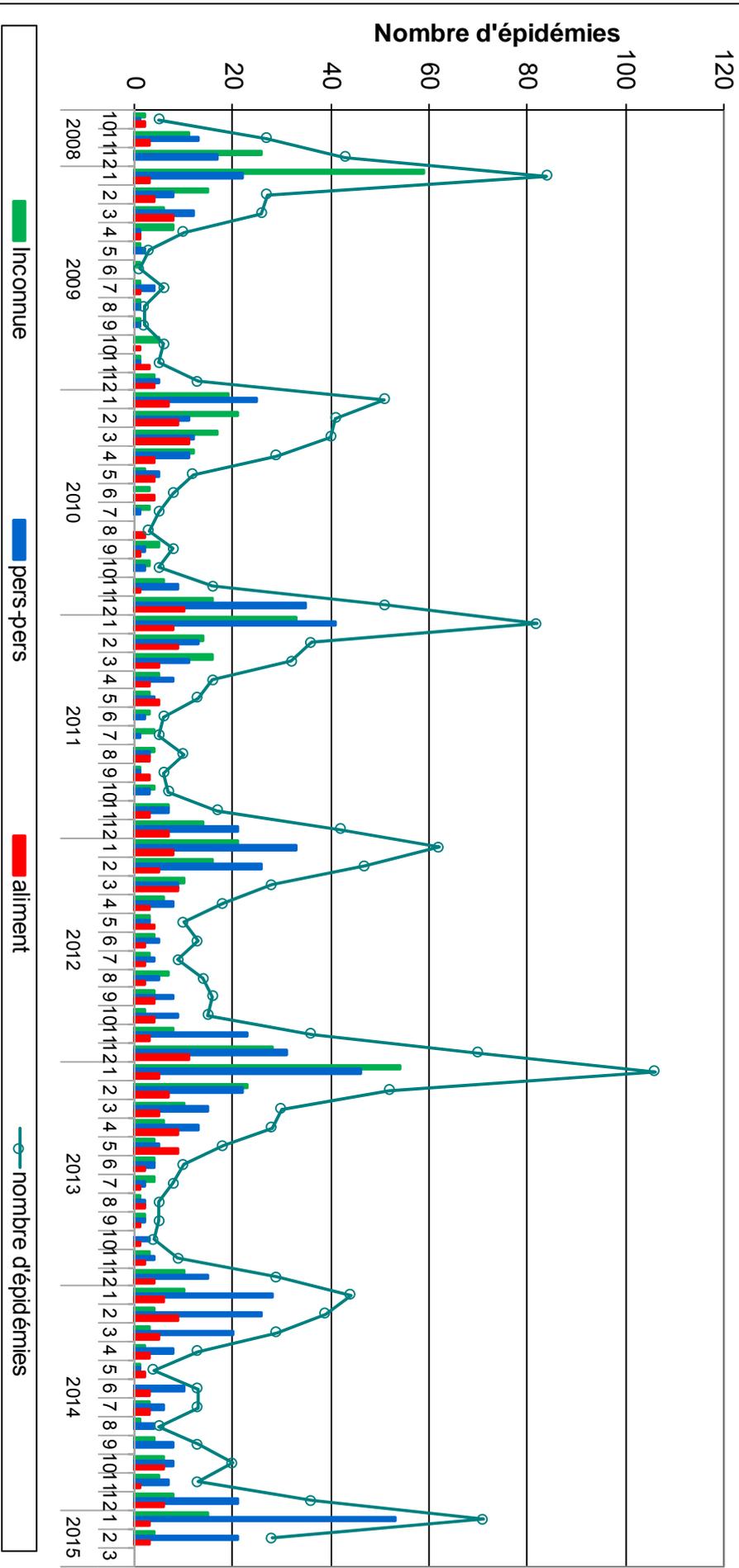
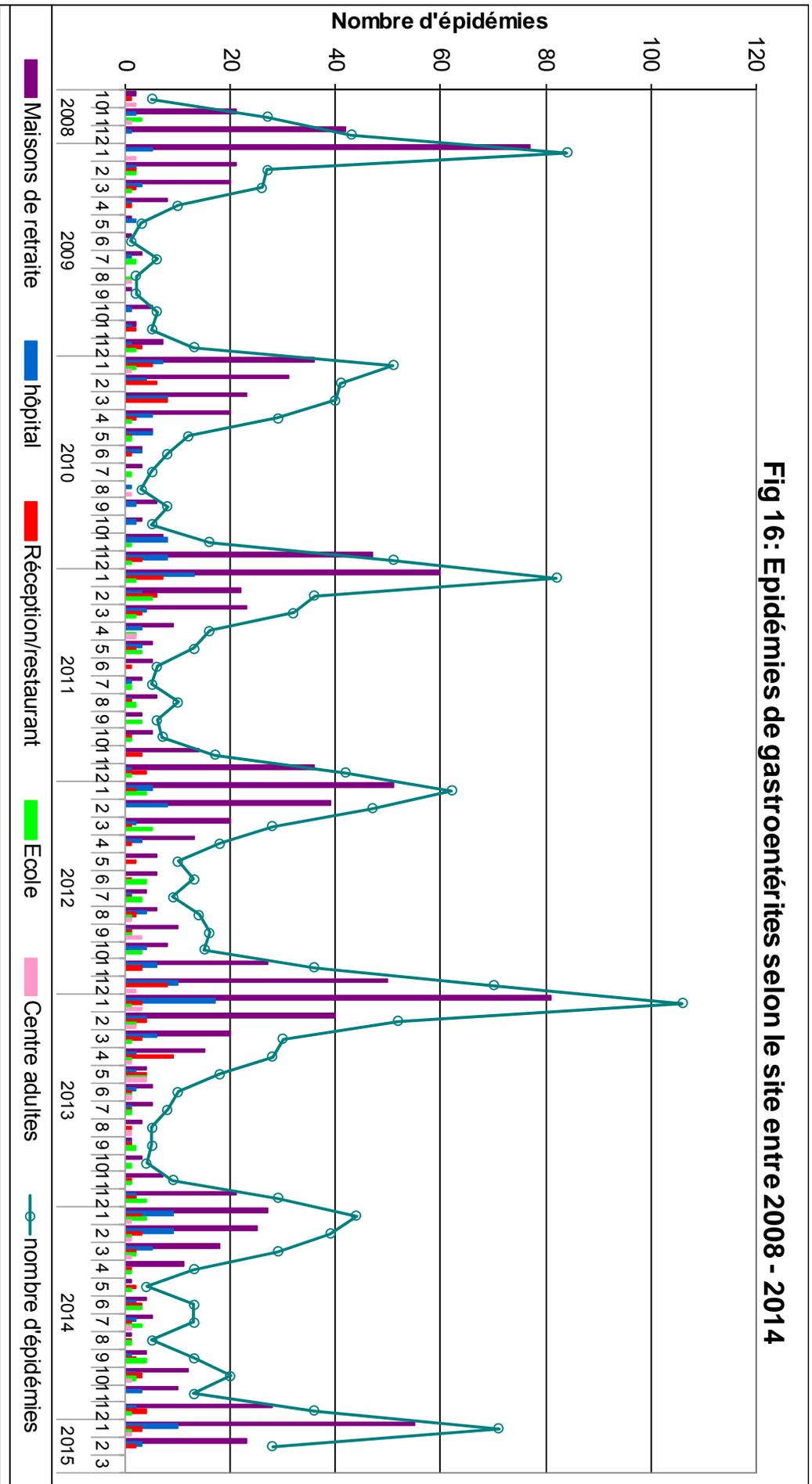


Fig 16: Epidémies de gastroentérites selon le site entre 2008 - 2014



3.2.3.3. Virus en cause

Depuis janvier 2008 jusqu'à décembre 2014, 1769 épidémies ont été investiguées, pour 1474 d'entre elles un virus était retrouvé dans les selles parvenues au laboratoire (83,3%). Dans la très grande majorité des cas le virus en cause est un **norovirus** (1344 épidémies soit 91,2% des épidémies positives) et pour 1272 épidémies (86,3%) il était le seul virus détecté (la figure 17 montre l'évolution depuis l'hiver 2008/2009). Parmi les norovirus, ceux du génogroupe II (1276 souches) et plus particulièrement le génotype 4 (GII.4 : 1006 souches), sont largement prédominants (figures 17 et 18).

Dans 127 épidémies (8,6% des épidémies positives) nous avons retrouvé un autre virus responsable : rotavirus, astrovirus, virus Aichi, adénovirus ou sapovirus pour les principaux.

Aucun virus n'a été détecté pour 305 épidémies soit 17,2% de l'ensemble des épidémies traitées.

Pour l'année 2014 : 242 épidémies, 187 avec au moins 1 virus (77,3%) ; un norovirus était associé à un autre virus dans 166 épidémies (88,8% des épidémies positives) ou seul (156 / 83,4%) ; un autre virus dans 21 épidémies (11,2%). Aucun virus n'a été détecté dans 55 épidémies soit 22,7%. Ces données sont voisines celles obtenues sur l'ensemble des années depuis l'hiver 2008 / 2009 avec une diminution non significative des détections de norovirus et une proportion plus importante de détection d'autres virus et d'épidémies négatives.

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. Sont d'abord apparus en 2002 le variant Farmington (appelé également GII.4 2002), en 2004 le variant Hunter (GII.4 2004), en 2006 les variants Yerske (GII.4 2006a) et Den Haag (GII.4 2006b) qui ont co-circulé jusqu'à la fin 2007. A partir de 2008, le variant GII.4 2006b est devenu largement prédominant. Le variant New Orleans (GII.4 2009) a remplacé le variant 2006b (figure 19). Depuis le début 2011 jusqu'à mars 2012 nous trouvons quasi exclusivement le variant GII.4 2009.

→ **Un nouveau variant, dénommé « Sydney » ou GII.4 2012, est apparu fin 2012 et a remplacé les précédents (figure 19). Ce nouveau variant a été responsable d'une augmentation importante des épidémies durant l'hiver 2012–2013. Ce variant GII.4 2012 persiste jusqu'à cet hiver 2014-2015, ce qui explique probablement les épidémies « modeste » des années 2013 et 2014.**

Caractéristiques des épidémies dues aux norovirus GII.4 (figure 20):

Mode de transmission : 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.

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

Figure 17: Virus responsables des épidémies. Période de 2008 à 2014

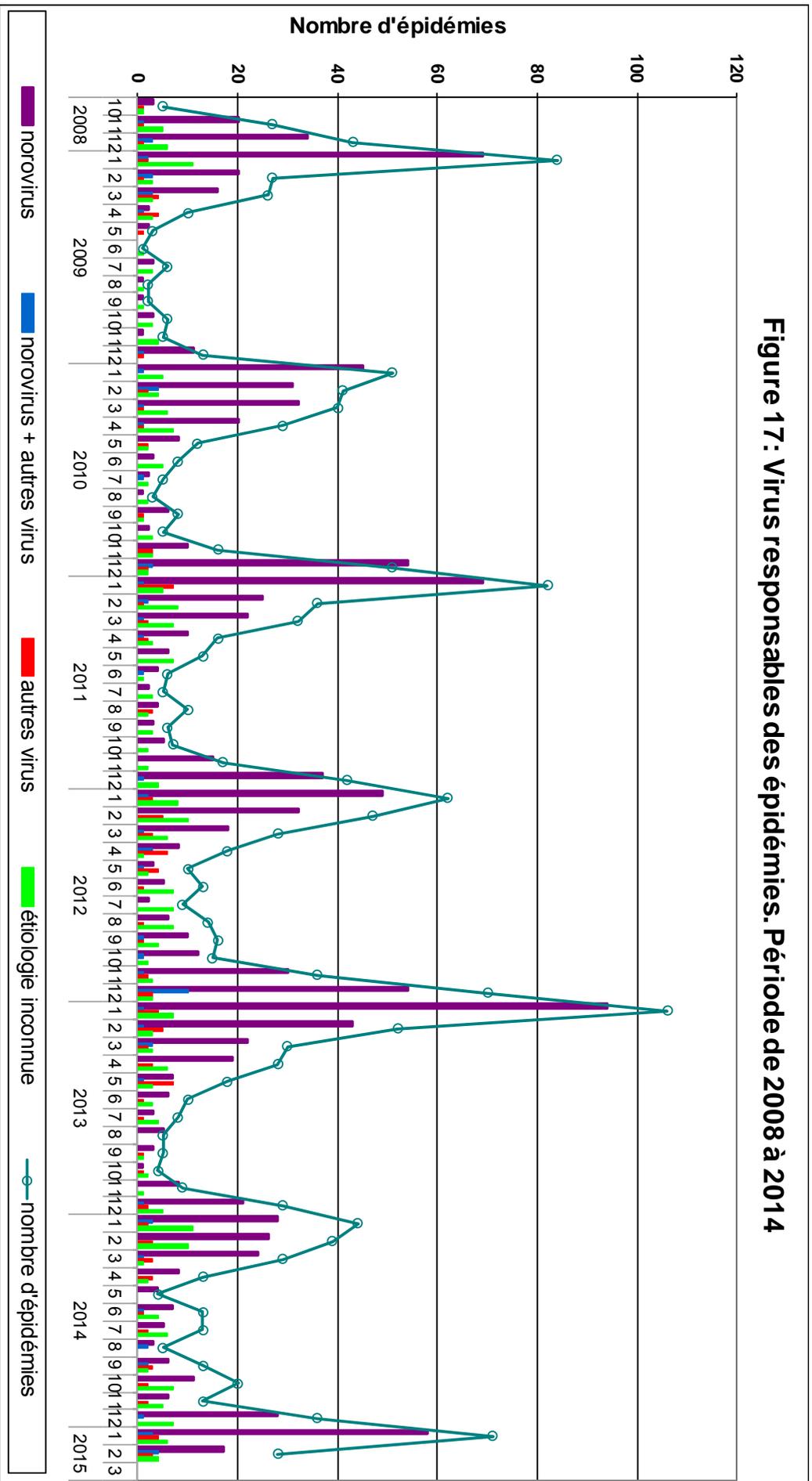


Figure 18: Répartition des génogroupes de norovirus par épidémie

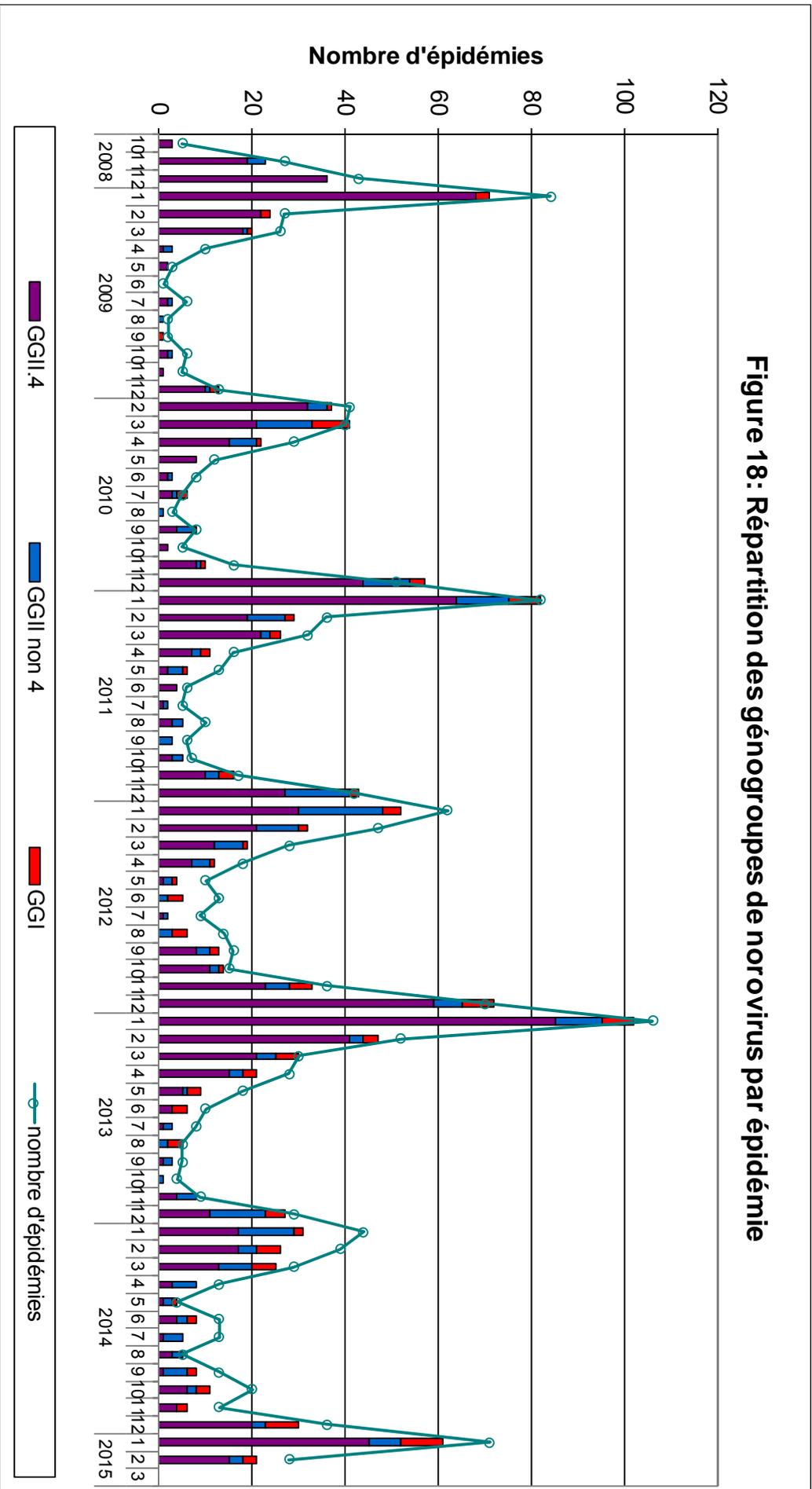
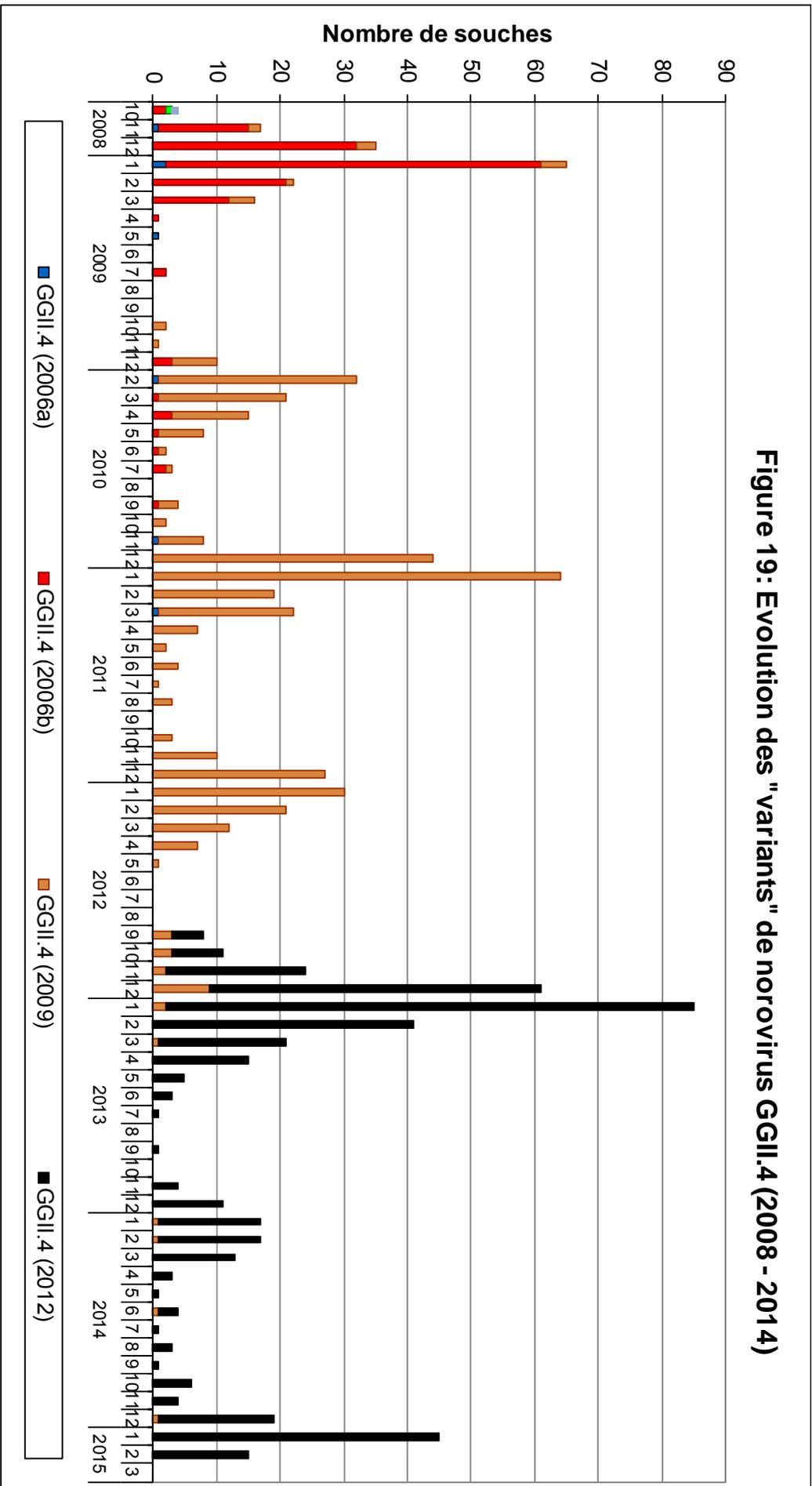


Figure 19: Evolution des "variants" de norovirus GGII.4 (2008 - 2014)



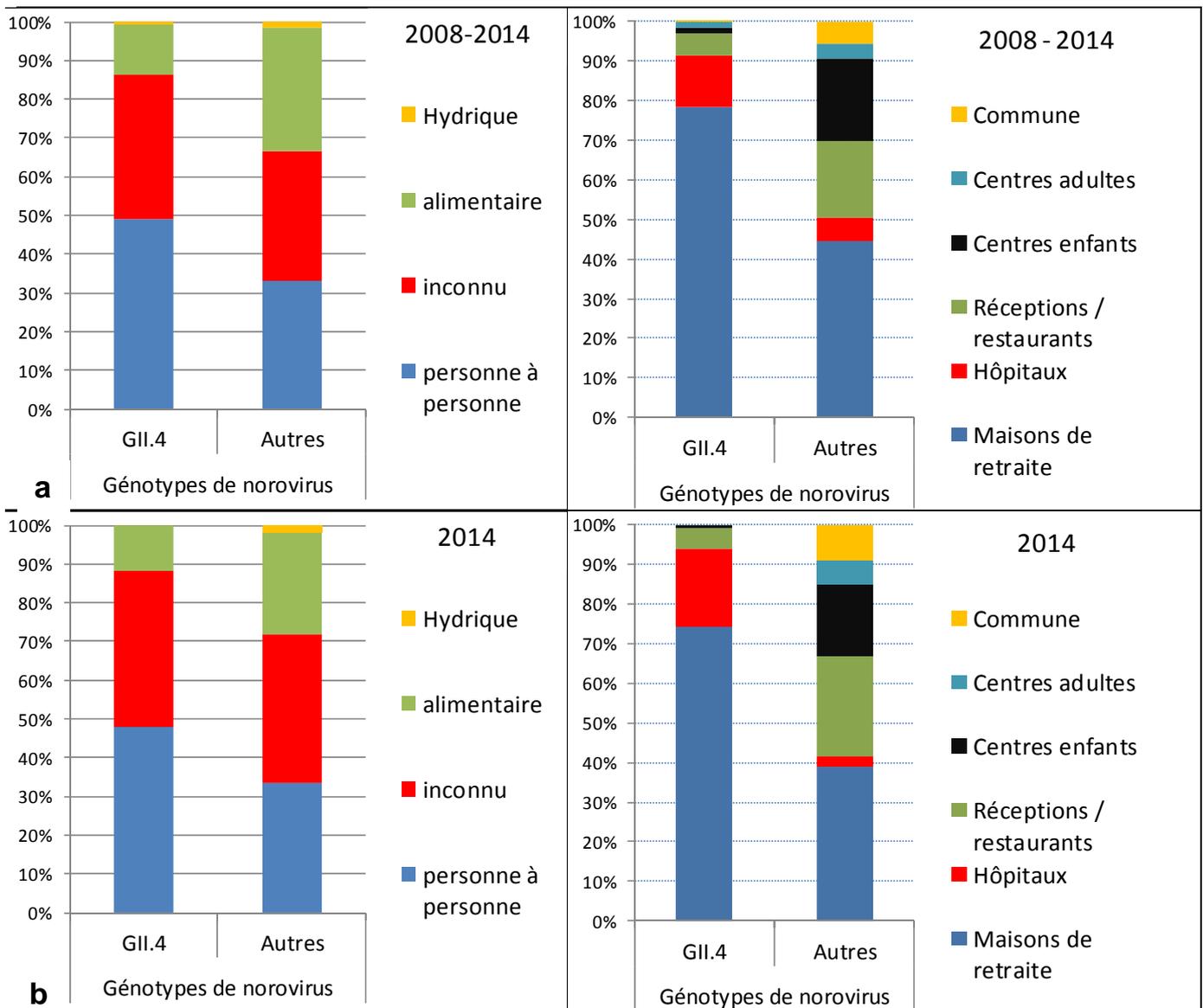


Figure 20a et b : Caractéristiques des épidémies dues aux norovirus de génotype *GII.4* comparées à celles dues aux autres génotypes. Les différences entre les *GII.4* et les autres génotypes est significative tant pour ce qui concerne le mode de transmission que le site de survenue ($p=0,0001$). Le mode de transmission de personne à personne est plus fréquent pour les épidémies à norovirus *GII.4* que celles d'origine alimentaire. Ces dernières étant plus fréquemment aux autres génotypes (période 2008 à 2014 (a) et année 2014(b))

3.3. CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX

3.3.1. Réseau 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.

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

En 2013, notre CNR avait participé à une publication internationale, celle décrivant l'apparition du nouveau variant GII.4 (ou Sydney) en Europe :

** 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 ; 18(1):8-9.*

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

Ces collaborations ont pour objectifs 1) la formation de virologistes aux techniques de détection-caractérisation des virus entériques et 2) une surveillance de l'épidémiologie des virus entériques dans la population et dans l'environnement des pays du pourtour méditerranéen et d'Afrique afin d'anticiper un risque de diffusion en Europe.

3.3.2.1. Réseau Tunisie, Algérie, Maroc.

Ces collaborations ont été soutenues par les programmes **CMCU et Hubert Curien** du Ministère des Affaires Etrangères et du Ministère de la Recherche. En 2014, elles ont concerné surtout la Tunisie et le Maroc.

Durant l'année 2014 nous avons collaboré ou accueilli :

- Collaboration avec Madame TOUIL Nadia
- Accueil d'une stagiaire Marocaine :
 - Madame le Docteur EL QAZOUI Maria, Laboratoire de Virologie, Institut National d'Hygiène, Rabat-Maroc, du 24 au 28 mars 2014.
Nous avons été rapporteur et membre de son jury de thèse qu'elle a soutenu à Rabat, Maroc, le 19 décembre 2015.
- Accueil d'une stagiaire Tunisienne, Mademoiselle Siwar AYOUNI durant toute l'année 2014.

En 2014, ces collaborations ont permis 3 publications et 2 communications :

Tunisie :

* Hassine-Zaafraane M, Sdiri-Loulizi K, **Kaplon J**, Ben Salem I, **Pothier P**, Aouni M, **Ambert-Balay K**. Molecular detection of human noroviruses in influent and effluent samples from two biological sewage treatment plants in the region of Monastir, Tunisia. *Food Environ Virol.* 2014 Jun;6(2):125-31.

* Hassine-Zaafraane M, Ben Salem I, Sdiri-Loulizi K, **Kaplon J**, Bouzlama L, Aouni Z, Sakly N, **Pothier P**, Aouni M, **Ambert-Balay K**. Distribution of G (VP7) and P (VP4) genotypes of group A bovine rotaviruses from Tunisian calves with diarrhoea. *J Appl Microbiol.* 2014 Jun;116(6):1387-95.

* Phan TG, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**, Deng X, Delwart E. New parvovirus in child with unexplained diarrhea, Tunisia. *Emerg Infect Dis.* 2014 Nov;20(11):1911-3.

Maroc :

* Alaoui Amine S, **Kaplon J**, Melloul M, **Ambert-Balay K**, Loutfi C, Doblali T, Touil N, Elfahime El Mustapha¹, **Pothier P**. Partial genomic analyses of moroccan caprine rotavirus strains provide evidence for interspecies transmission. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.

* Doblali T, Touil N, **Kaplon J**, **Ambert-Balay K**, Agadr A, El Hamzaoui S, **Pothier P**. Clinical and molecular descriptions of rotavirus in morocco 2 years after rotarix introduction. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.

3.3.2.2. Programme d'Appui à la Recherche en Réseau en Afrique (PARRAF)

Dès 2010 nous avons commencé une collaboration avec le Niger (Centre de Recherche Médicale et Sanitaire et l'Université, Niamey). Le travail a été publié dans *Emerging Infectious Diseases* en 2014.

* Page AL, Jusot V, Mamaty AA, Adamou L, Kaplon J, Pothier P, Djibo A, Manzo ML, Toure B, Langendorf C, Collard JM, Grais RF. Rotavirus surveillance in urban and rural areas of niger, april 2010-march 2012. *Emerg Infect Dis.* 2014 ; 20 (4) : 573-80.

Nous avons étendu cette collaboration au Burkina Faso à partir de 2011 et jusqu'à présent.

* Makaya JM, **Kaplon J**, **Fremy C**, Barro N, Aho S, **Pothier P**, **Belliot G**, Traoré AS. *Norovirus and Rotavirus Survival in Urine Collected from a Public Ecological Sanitation System in Ouagadougou, Burkina Faso. Food Environ Virol. 2014 Nov 19.*

Dans le cadre de cette collaboration nous avons accueilli **Mademoiselle OUEDRAOGO Nafissatou** (doctorante à l'Université de Ouagadougou), d'abord en 2013 puis de nouveau entre le **1^{er} juillet et le 30 septembre 2014**.

Un travail effectué en collaboration sera présenté au prochain congrès européen sur les rotavirus qui se déroulera à Dijon du 17 au 20 mai 2015.

* Ouedraogo N, **Kaplon J**, Bounkougou I J.O, **Fremy C**, Traore AS., **Pothier P**, Barro N, **Ambert-Balay K**. *Rotavirus genotypes during pre-vaccine period in ouagadougou, burkina faso. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.*

En 2013 et 2014 nous avons étendu nos collaborations dans la région en participant au programme PARRAF qui regroupe 2 partenaire « Nord », notre CNR et l'Unité des bactéries pathogènes entériques dirigée par le Dr François-Xavier WEILL et 5 partenaires « Sud » : l'Institut Pasteur de Dakar (**Sénégal**), l'Université de Ouagadougou (**Burkina Faso**), l'Institut National de Santé Publique (**Guinée Conakry**), l'Institut National de Recherche en Santé Publique (**Mali**), Centre de Recherche Médicale et Sanitaire de Niamey (**Niger**).

3.3.2.3. Autres collaborations internationales

- **Palestine :**

Dans le cadre un projet Hubert Curien (MAQDISI 2013) : « Prevalence of viral gastroenteritis among palestinian children in west-bank ».

Dans le cadre de ce projet nous avons fait une mission de 5 jours sur place entre le 18 et 23 février 2014 afin d'organiser l'étude. Nous accueillerons notre partenaire palestinienne, Rasha KHAYYAT, du 18 au 30 mai 2015.

3.4. ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE

3.4.1. Suivi de 18 établissements long séjour en Alsace (2008 à 2014)

- Ce travail prospectif de surveillance a été réalisé durant la période de septembre 2008 à mai 2014 en collaboration avec Philippe GASPARD à Rouffach (68250). Nous avons suivi 18 établissements de long séjour soit 35 unités (1 à 4 unités par établissement). Ces établissements disposaient d'une équipe médicale et de procédures d'hygiène homogènes. Les différences portaient sur la taille des établissements et des unités, le type d'activité, la présence ou non d'une salle à manger commune.
- Au total 98 épisodes de gastro-entérites ont été observées durant les six saisons hivernales de l'étude. La recherche de virus a été effectuée dans 86 épisodes et un virus a été identifié dans 83 épisodes (96,5%). Le plus souvent il s'agissait d'un norovirus de génotype GII.4 (49/83 ; 59%), un autre virus a été détecté dans 34 épisode (41%).
- Une variation significative était retrouvée entre les saisons et le nombre d'unités touchées par une épidémie ($p=0,01$). Il y avait également une correspondance entre le nombre d'unités touchées et l'importance des épidémies au niveau national. Par ailleurs, nous avons montré que les norovirus de génotype GII.4 avaient un taux d'attaque significativement supérieur aux autres génotypes et génogroupes de norovirus et au rotavirus.

En conclusion : Cette étude prospective a montré que le risque d'épidémie était lié à la taille des établissements ($p<0,001$), la taille des unités ($p<0,001$), le partage d'une salle à manger ($p<0,01$). Mais que ce risque n'était pas lié au nombre d'unités par établissement et au type d'activité (EHPAD, gériatrie spécialisée, rééducation fonctionnelle...)

* Gaspard P, **Katia -Balay K**, Mosnier A, Aho-Glélé S, Roth C, Larocca S, Simon L, Talon D, Rabaud C, **Pothier P**. Burden of gastroenteritis outbreaks: specific epidemiology in a cohort of institutions caring for dependent people. Soumis à publication.

3.4.2. Caractérisation de nouveaux virus dans les selles de patients

En collaboration avec le laboratoire d'Eric DELWART (Université de Californie, San Francisco, USA) nous avons recherché la présence de virus inhabituels ou nouveaux dans les selles de patients diarrhéiques préalablement sélectionnés. Cette recherche a été effectuée par une approche métagénomique et elle nous a permis de caractériser de nouveaux virus dont la présence dans les fèces n'y avait jamais été décrite. Il s'agit :

- d'un nouveau parvovirus, le Tunisavirus qui serait le prototype du genre Protoparvovirus chez les primates.

* Phan TG, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**, Deng X, Delwart E. New parvovirus in child with unexplained diarrhea, Tunisia. *Emerg Infect Dis*. 2014 Nov;20(11):1911-3

- d'une nouvelle espèce de Gyrovirus :

* Gia Phan T, Charlys da Costa A, Wen Z, **Pothier P**, **Ambert-Balay K**, Deng X, Delwart E. New gyrovirus in feces of a patient with diarrhea. Soumis à publication.

- De nouveaux virus pour lesquels le nom de *Smacoviridae* a été proposé pour dénommer la famille virale

* Fei Fan Ng T, Zheng W, Sachsenröder J, Kondov N O, Costa C, Vega E, Mulvaney U, Muench M, Deng X, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**, Vinjé J, Delwart E. Small circular DNA viral genomes from unexplained gastroenteritis outbreaks in the United States and France and in captive non-human primates. Soumis à publication.

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 Madame Nelly FOURNET.

Notre interlocuteur au réseau sentinelle est Monsieur Mathieu RIVIERE depuis l'automne 2013.

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>).

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

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

4.2.3. 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.

Important : 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 à 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 4.4. et annexe 3. Procédure de traitement d'une épidémie).

4.3.1.1. 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.

4.3.1.2. 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.

4.3.1.3. 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 DE GEA

Renseignements disponibles sur le site web : <http://www.cnr-ve.org>

Adresse complète : <http://www.chu-dijon.fr/page.php?url=directory/centre-national-de-referance-des-virus-enteriques/traitement-des-prelevements>

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

5.1. SITE WEB

Il nous permet une présentation du CNR et de ses missions. Il détaille les différentes procédures : conditions de prélèvement des selles, de leur conservation et de leur acheminement au CNR, les virus recherchés au CNR. Il est continuellement mis à jour afin d'être un de nos moyen de communication et d'information.

Lien web : www.cnr-ve.org

5.2. ACTIVITÉ DE CONSEIL

- **Haut Conseil Santé Public** : Le CNR des virus entériques répond à la demande des autorités lorsque le sujet concerne son domaine de compétence. A ce titre, nous avons participé au **groupe de travail sur la vaccination rotavirus** jusqu'au rapport terminal finalisé au quatrième trimestre 2013. Nous nous sommes de nouveau réunis le 26 mars 2015 pour prendre position sur la recommandation de la vaccination rotavirus suite au rapport de pharmacovigilance et la position du Comité de Transparence.
- **Académie de Pharmacie** : Présentation à un groupe de travail de l'Académie de Pharmacie le 20 janvier 2014 sur les risques virologiques lors du transfert de flore pour les infections à Clostridium difficile.
- **ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament)** : intervention lors de la réunion du 10 février 2015 sur « le bilan virologique lors des transferts de flore fécale.
- Comme par le passé, le CNR des virus entériques apporte son aide ou ses conseils aux établissements publics, aux établissements de soins ou d'hébergement (publics ou privés), aux administrations qui lui en font la demande.
- Sous certaines conditions, nos conseils peuvent être dispensés aux entreprises privées.

5.3. ACTIVITÉ DE FORMATION

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

Séminaire de formation pratique est prévu du 05 au 13 Mai 2014 à Dakar dans le cadre du projet PARRAF. L'intervenant du CNR est Monsieur Maxime BIDALOT.

Stagiaire accueillis en 2014 :

- Mademoiselle OUEDRAOGO Nafissatou (doctorante à l'Université de Ouagadougou), d'abord en 2013 puis de nouveau entre le 1^{er} juillet et le 30 septembre 2014.
- Madame EL QAZOUI Maria (Institut N^{el} d'Hygiène, Rabat, Maroc) : 24 au 28/03/2014.
- Mademoiselle Siwar AYOUNI (Université de Monastir, Tunisie), durant toute l'année 2014
- Madame Khira SDIRI-LOULIZI (Université Monastir, Tunisie), épisodiquement en 2014.

5.4. COLLOQUES ET RÉUNIONS SCIENTIFIQUES

- **Organisation de conférence, meeting et autres réunion :**

Nous organisons le « **6th European Rotavirus Biology Meeting** » du **17 au 20 mai 2015 à Dijon**. Cette conférence réunira les spécialistes européens travaillant sur les rotavirus. Mais au-delà, des chercheurs venus du Japon, d'Afrique et d'Amérique (USA et Amérique du Sud). Site web : <https://www.etchouches.com/ehome/103516>.

- **Participation à des colloques sur invitation en France.**

1. Les vaccins rotavirus couverture vaccinale en 2014 et impact sur l'épidémiologie virale. Congrès SFM : actualités en vaccinologie, 1^{er} avril 2014, Paris.
2. Infections à Norovirus. Journées Internationales de Biologie, 9 octobre 2014, Paris.
3. Hépatites A, E et norovirus : symptômes et épidémiologie. 4^{ème} Rencontre Scientifique, Casino – Silliker, 5 février 2015, Paris.

- **Participation à des jurys de thèse à l'étranger :**

1. Maria HEMMING : rapporteur de la thèse et « oponent » lors de la soutenance à l'Université de Tampere en Finlande, le 28 mai 2014. Titre de la thèse : "Rotavirus Infections in Children, Clinical features and effects of large scale prevention by rotavirus vaccination". Directeur de la these: Timo Vesikari.
2. Maria EL QAZOUI : rapporteur et membre du jury lors de la soutenance à l'Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat le 19 décembre 2014. Titre de la thèse : Etude épidémiologique et moléculaire des Norovirus dans les gastroentérites virales chez les enfants de moins de cinq ans au Maroc

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

6.1. ACTIVITES DE RECHERCHE EN LIEN AVEC LES MISSIONS DU CNR

6.1.1. Etudes appliquées : Evaluation de réactifs

- ***Diagnostic accuracy of seven commercial assays for the rapid detection of group a rotavirus antigens.***

Kaplon J, Fremy C, Mendes Martins L, Pillet S, Ambert Balay K, Aho S, Pothier P.

6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.

Cette évaluation répond à un besoin d'actualisation des données sur les tests anciens mais éventuellement modifiés et les nouveaux tests disponibles.

Sept trousse commerciales disponibles dans les hôpitaux ont été évaluées. La sensibilité des tests variait entre 69,1% (IC à 95%: 59,6 à 77,6) et 78,2% (IC à 95%: 69,3 à 85,5). La spécificité variait entre 97,9% (IC à 95%: 94,0 à 99,6) et 100% (IC à 95%: 97,5 à 100). Les performances des sept trousse ne variaient pas de façon significative et la sensibilité de six d'entre elles était supérieure à 73%. Néanmoins, si ces trousse très simples d'utilisation sont parfaitement appropriées pour les diagnostics des infections symptomatiques, leur sensibilité peut être insuffisante pour la détection des infections asymptomatiques et la prévention des infections nosocomiales.

6.1.2. Etudes épidémiologiques :

6.1.2.1. Epidémiologie des rotavirus en Afrique.

- ***Rotavirus surveillance in urban and rural areas of Niger, April 2010-March 2012.***

Page AL¹, Jusot V², Mamaty AA², Adamou L³, Kaplon J⁴, Pothier P⁴, Djibo A^{5,6}, Manzo ML⁶, Toure B², Langendorf C¹, Collard JM³, Grais RF¹.

¹ *Epicentre, Paris, France,*

² *Epicentre, Niamey, Niger,*

³ *Centre de Recherche Médicale et Sanitaire (CERMES), Niamey,*

⁴ *University Hospital of Dijon, Dijon, France,*

⁵ *Niamey University, Niamey,*

⁶ *Ministry of Health, Niamey.*

Emerg Infect Dis. 2014 ; 20 (4) : 573-80.

La connaissance de l'épidémiologie du rotavirus est nécessaire avant l'introduction du vaccin afin d'en évaluer l'impact et les risques d'émergence de nouvelles souches. La surveillance des rotavirus a été effectuée entre avril 2010 et mars 2012 auprès de 9745 enfants de moins de 5 ans dans 14 centres de soins au Niger. Les enfants souffraient de diarrhée aqueuse aiguë avec déshydratation modérée à sévère, 20% des enfants étaient inscrits dans un programme de nutrition. Le rotavirus a été détecté chez 30,6% des enfants. Le génotypage a montré une variété de génotypes la première année bien que G2P[4] prédominait. La seconde année, le génotype G12 – combinaisons G12P[8] et G12P[6] – représentait plus de 80% des isolats. Les taux d'hospitalisation, mortalité et déshydratation sévère ne différaient pas parmi les patients rotavirus positifs sur les 2 années de l'étude. L'émergence de G12 justifie une attention particulière.

6.1.2.2. Epidémiologie des norovirus.

- ***The burden of norovirus gastroenteritis: an important foodborne and healthcare-related infection.***

Belliot G, Lopman BA, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**.

Clin Microbiol Infect. 2014 Aug;20(8) : 724-30.

- ***Norovirus disease today.***

Pothier P, Kaiser L.

Clin Microbiol Infect. 2014 Aug ; 20 (8) : 716.

- ***Acute diarrhea in adults consulting a general practitioner in France during winter: incidence, clinical characteristics, management and risk factors.***

Arena C, Amoros JP, Vaillant V, **Ambert-Balay K**, Chikhi-Brachet R, Jourdan-Da Silva N, Varesi L, Arrighi J, Souty S, Blancho T, Falchi A, Hanslik T.

BMC Infect Dis. 2014 Oct 30;14(1):574.

- ***Surveillance for outbreaks of gastroenteritis in elderly long-term care facilities in France, November 2010 to May 2012.***

Barret AS, Jourdan-Da Silva N, **Ambert-Balay K**, Delmas G, Bone A, Thiolet J-M, Vaillant V. *Eurosurveillance* 2014 July 24; 19(29).

- ***An norovirus oyster-related outbreak in a nursing-home in France, January 2012.***

Loury P, Le Guyader FS, Le Saux JC, **Ambert-Balay K**, Parrot P, Hubert B.

Epidemiol Infect 2015 Jan 8:1-8.

Ces revues et articles font le point sur l'ensemble de l'activité du CNR des virus entériques et replace ces résultats dans le contexte international.

- ***Burden of gastroenteritis outbreaks: specific epidemiology in a cohort of institutions caring for dependent people.***

Gaspard P ^{a,b}, **Ambert-Balay K** ^c, Mosnier A ^d, Aho-Glélé S ^e, Roth C^a, Larocca S ^a, Simon L ^f, Talon D ^f, Rabaud C ^f, **Pothier P** ^c

^a Hospital hygiene service, Rouffach Hospital Center, Rouffach, France.

^b UMR 6249 Chrono-Environnement, University of Franche-Comté, Besançon, France.

^c National Reference Center for Enteric Viruses, Laboratory of Virology, CHU of Dijon, Dijon, France.

^d Open Rome, Paris, France.

^e Department of Hospital Epidemiology and Infection Control, CHU of Dijon, Dijon, France.

^f Coordination Centre for Nosocomial Infection Control, Eastern Regions, CHU Nancy, Nancy, France.

Soumis à publication. Voir paragraphe 3.4.1.

6.1.3. Etudes épidémiologiques chez les animaux.

- ***Distribution of G (VP7) and P (VP4) genotypes of group A bovine rotaviruses from Tunisian calves with diarrhea.***

Hassine-Zaafrane M^{1,2}, Ben Salem I¹, **Sdiri-Loulizi**^{1,2}, **Kaplon J**², Bouslama L¹, Aouni Z¹, Sakly N³, **Pothier P**², Aouni M¹, **Ambert-Balay K**².

1. Laboratory of Infectious Diseases and Biological Agents, Faculty of Pharmacy, University of Monastir, Monastir, Tunisia

2. National Reference Center for Enteric Viruses, Laboratory of Virology, CHU of Dijon, 2 Rue Angélique Ducoudray, University of Bourgogne, Dijon, France

3. Laboratory of Immunology, University Hospital Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisia

L'objectif de ces études est de mieux connaître les souches de virus entériques (essentiellement rotavirus et norovirus) circulant chez les animaux afin de mieux détecter ces souches animales chez l'homme et de mieux comprendre les mécanismes de transmission de l'animal à l'homme.

6.1.4. . Caractérisation de nouveaux virus dans les selles par métagénomique

Mis à part l'intérêt d'une étude phylogénétique, l'objectif principal de ces recherches pour le CNR est la recherche de virus qui pourraient être des pathogènes opportunistes dans certaines conditions, en particulier les pays d'Afrique mais aussi en France chez les immunodéprimés ou les personnes âgées. **Voir paragraphe 3.4.2.**

- **New Parvovirus in Child with Unexplained Diarrhea, Tunisia.** *Emerg Infect Dis.* 2014 ; 20(11) : 1911-3.

Gia Phan T^{1,2}, Sdiri-Loulizi S^{5,6}, Aouni M⁶, Ambert-Balay K⁵, Pothier P⁵, Deng X¹, Delwart E^{1,2}.

- **Small circular DNA viral genomes from unexplained gastroenteritis outbreaks in the United States and France and in captive non-human primates.** *Soumis à publication.*

Ng TF^{1,2}, Zheng W¹, Sachsenröder J⁷, Kondov NO¹, da Costa AC¹, Vega E⁹, Mulvaney US¹, Muench MO¹, Xutao Deng^{1,2}, Ambert-Balay Katia⁵, Pierre Pothier⁵, Jan Vinje⁸, Eric Delwart^{1,2}. *Soumis à publication.*

- **New gyrovirus in feces of a patient with diarrhea.** *Soumis à publication.*

Gia Phan T^{1,2}, da Costa AC^{1,3}, Wen Z^{1,4}, Pothier P⁵, Ambert-Balay K⁵, Deng X¹, Delwart E^{1,2}.

¹ Blood Systems Research Institute, San Francisco, CA94118, USA

² Department of Laboratory Medicine, University of California at San Francisco, San Francisco, CA94118, USA

³ Institute of Tropical Medicine, School of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴ Pharmacology Department, School of Pharmacy, Ho Chi Minh City, University of Medicine and Pharmacy, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁵ National Reference Centre for Enteric Viruses, University Hospital of Dijon, Dijon, France

⁶ Faculty of Pharmacy, Laboratory of Infectious Diseases and Biological Agents, University of Monastir, Monastir, Tunisia

⁷ Federal Institute for Risk Assessment, Max-Dohrn-Straße 8-10, 10589 Berlin, Germany

⁸ Division of Viral Diseases, National Center for Immunizations and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

6.1.5. Etudes chez les immunodéprimés :

- **Diarrhée chronique à Rotavirus chez deux enfants diarrhéiques présentant un déficit immunitaire combiné sévère (SCID).**

Rotavirus vaccine virus shedding, viremia and clearance in an infants with severe combined immune deficiency. *Pediatr Infect Dis J.* 2015 Mar;34(3):326-8.. **Voir aussi paragraphe 2.2.3.3.**

Kaplon J¹, Cros G², Ambert-Balay K¹, Leruez-Ville M³, Chomton M², Fremy C¹, Pothier P¹, Blanche S².

¹ National Reference Centre for enteric viruses, University Hospital of Dijon, France

² Paediatric Immunology, Haematology and Rheumatology unit, Necker Enfants Malades Hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

³ Laboratory of virology, Necker Enfants Malades Hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France.

Nous rapportons deux cas de gastro-entérites avec virémie survenus chez deux nourrissons ayant été vaccinés par le vaccin Rotarix™ avant qu'un déficit immunitaire combiné sévère fut diagnostiqué. L'infection a été résolue après reconstitution immunitaire complète obtenue par thérapie génique.

- **Diarrhées chroniques à norovirus chez les immunodéprimés traités par alemtuzumab.**

Norovirus-related chronic diarrhea in a patient treated with alemtuzumab for chronic lymphocytic leukemia. *BMC Infect Dis.* 2014 May 6 ; 14 : 239.

Anne-Marie Ronchetti¹, Benoit Henry², **Katia Ambert-Balay³**, **Pierre Pothier³**, Justine Decroocq¹, Véronique Leblond¹, Damien Roos-Weil^{1,*}

¹ Hematology Department, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Université Pierre et Marie Curie Paris 06, GRC 11 (GRECHY), Paris, France

² Tropical and Infectious Diseases Department, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

³ Centre National de Référence des Virus Entériques, CHU de Dijon, Dijon, France

Nous rapportons un cas de diarrhée chronique à norovirus chez un patient immunodéprimé de 62 ans traités avec l'alemtuzumab pour une leucémie lymphoïde chronique. Malgré différentes stratégies thérapeutiques, y compris une diminution du traitement immunosuppresseur et l'administration d'immunoglobulines (Ig), la diarrhée a persisté durant plus de douze semaines avec excrétion fécale de norovirus. Bien que l'administration d'Ig par voie orale ait été décrite comme une thérapie efficace, ce n'était pas le cas chez notre patient. Des essais cliniques sont donc justifiés pour mieux définir les stratégies thérapeutiques efficaces contre l'infection à norovirus chez les sujets immunodéprimés.

6.1.6. Norovirus et contaminations environnementale et alimentaire

- **Molecular detection of human noroviruses in influent and effluent samples from two biological sewage treatment plants in the region of Monastir, Tunisia.**

Hassine-Zaafraane M, Sdiri-Loulizi K, **Kaplon J**, Ben Salem I, **Pothier P**, Aouni M, **Ambert-Balay K**.

Food Environ Virol. 2014 Jun;6 (2) : 125-31.

La détection des norovirus dans les eaux usées peut refléter l'épidémiologie des souches virales circulant dans la communauté. Nous avons recherché la présence des norovirus durant trois années (2007-2010) dans 518 échantillons d'eaux usées collectées à l'entrée et à la sortie de deux usines de traitement de la région de Monastir en Tunisie. Dans cette étude, nous avons caractérisé les norovirus des génogroupes I et II afin de les comparer aux souches circulant dans la population et d'évaluer l'efficacité des traitements de désinfection. Ce travail confirme la grande circulation et la diversité génétique des norovirus en Tunisie et la large diffusion de norovirus des 2 génogroupes dans les eaux usées brutes et traitées.

- **Absolute humidity influences the seasonal persistence and infectivity of human norovirus.**

Colas de la Noue A¹, Estienney M², Aho S³, Perrier-Cornet J-M¹, de Rougemont A², Pothier P², Gervais P¹, Belliot G².

¹.UMR Procédés Alimentaires et Microbiologiques, AGROSUP, Burgundy University, Dijon, France

².National Reference Center for Enteric Viruses, Public Hospital of Dijon, France

³ Epidemiology and Infection Control Unit, Public Hospital of Dijon, Dijon, France

Appl Environ Microbiol. 2014 : 80 (23), 7196-7205.

Les épidémies à norovirus se produisent souvent pendant la saison d'hiver. Les mécanismes par lesquels les facteurs climatiques peuvent influencer sur la pathogénicité de l'infection à norovirus sont encore mal compris. L'humidité, mentionnée pour la grippe saisonnière, pourrait jouer un rôle dans la saisonnalité des norovirus. Nous avons utilisé le norovirus murin comme substitut du norovirus humain pour étudier sa persistance lorsqu'il est exposé à différents niveaux d'humidité relative (HR) : de faible (10 % HR) à saturées (100% HR). Nous avons observé que l'infectivité du MNV a été complètement supprimée en moins de 12 heures pour des humidités relatives de 50 à 85% à 25°C. Pour 10 % et 30 % d'humidité relative, nous avons observé que le MNV pourrait être maintenu infectieux pendant plus d'un mois. Le génome viral était encore détectable quel que soit le taux d'humidité ce qui suggère que 50 à 80 % d'humidité relative affecte principalement la structure de la capsid et non le génome. Nous avons émis l'hypothèse que la capsid norovirus devrait être principalement affectée par l'humidité et modulerait sa capacité d'attache aux ligands HBGA. Nous avons donc effectué des expériences similaires en utilisant des VLP de norovirus humain GII.4 et étudié leur profil de liaison aux antigènes A, B, O et aux salives de non-sécréteurs. L'attachement aux salives de sécréteur a été le mieux conservé à 10 % d'humidité relative. Toutefois la liaison aux antigènes O, A et B des salives a été également constatée pour les VLP, qui ont été maintenues à 80 et 100 % d'humidité relative. La liaison était significativement inférieure à celle observée pour 10 % d'humidité relative et la liaison était absente pour 30 et 50 % d'humidité relative. La liaison aux salives de non - sécréteur n'a été observée qu'à 10 % d'humidité relative. L'ensemble de ces données indiquent que les propriétés de liaison des norovirus humains pourraient être influencées par l'humidité dans l'air et que la liaison aux salives de non-sécréteur était la plus labile. L'observation au microscope électronique des VLP ont confirmé ces résultats. Cette étude met en évidence le rôle potentiel des paramètres météorologiques tels que les RH dans la persistance de norovirus dans l'environnement comme cela a été décrit pour les virus de la grippe.

• **Norovirus and rotavirus survival in urine collected from a public ecological sanitation system in Ouagadougou, Burkina Faso.**

Makaya JM^{1,2}, Kaplon J³, Fremy C³, Barro N¹, Aho S⁴, Pothier P³, Belliot G³, Traoré AS¹.

¹ Centre de Recherche en Sciences Biologiques, Alimentaires et Nutritionnelles, Université de Ouagadougou, Burkina Faso.

² Agence Intergouvernementale Eau et Assainissement pour l'Afrique, Ouagadougou, Burkina Faso.

³.National Reference Center for Enteric Viruses, Public Hospital of Dijon, France

⁴ Epidemiology and Infection Control Unit, Public Hospital of Dijon, Dijon, France

Food Environ Virol. 2015 Mar;7(1):41-8.

L'urine des toilettes est couramment utilisée comme engrais pour l'agriculture urbaine à Ouagadougou, Burkina Faso. Comme elle peut être contaminée accidentellement par des matières fécales, nous avons déterminé si les principaux virus entériques pouvaient y persister et constituer un risque infectieux pour l'homme.

Les résultats suggèrent que l'urine a une activité virucide réelle bien que moins marquée pour les rotavirus. Malgré tout, l'utilisation de l'urine comme engrais fertilisant reste une méthode prometteuse.

6.1.7. Infections à rotavirus et à norovirus et antigènes de groupe sanguins

- ***Relationship between Norovirus infections and blood group antigens in children.***

Ayouni S^{1,2}, Estienney M¹, Sdiri-Loulizi K^{1,2}, Ambert-Balay K¹, de Rougemont A¹, Aho S³, Hammami S⁴, Aouni M², Néji Guédiche M⁴, Pothier P¹, Gaël Belliot¹

¹ *National Reference Center for Enteric Viruses, Public Hospital of Dijon, France*

² *Lab of Infectious Diseases and Biological Agents, Faculty of Pharmacy, Monastir, Tunisia*

³ *Epidemiology and Infection Control Unit, Public Hospital of Dijon, Dijon, France*

⁴ *Pediatric Department, University Hospital Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisia*

⁵ *Department of Community Medicine, Monastir Medical School, Monastir, Tunisia*

Soumis à publication

Les échantillons de salive, de sang et de selles appariés ont été recueillis chez des enfants tunisiens (N = 114) hospitalisés pour une gastro-entérite aiguë à l'hôpital de Monastir (hiver 2011-2012). Le génotype GII.3 était prédominant (69% de tous les norovirus). Pour les patients qui ont été phénotypés (N = 114) pour des antigènes de groupes sanguins humains (HBGA), le phénotype sécréteur et non-sécréteur représentait respectivement 79 et 21%. Parmi les infections nov, 83% ont été détectés dans tous les groupes ABO. Cinq isolats de GII.3, un GII.1 et un GII.7 ont été détectés chez des non-sécréteurs Lewis-positifs. Même si nos données ont montré que GII.3 pouvait infecter des non-sécréteurs, aucune liaison a été observée en utilisant la salive du patient non-sécréteur infecté et une VLP de GII.3 exprimée en baculovirus. Cela suggère que d'autres facteurs pourraient également participer à l'attachement du norovirus chez les enfants et les nouveau-nés.

- ***Rotavirus P[8] infections in secretor and non-secretor individuals***

Ayouni S^{1,2}, Sdiri-Loulizi K^{1,2}, de Rougemont A¹, Estienney M¹, Ambert-Balay K¹, Aho S³, Hammami S⁴, Aouni M², Néji Guédiche M⁴, Pothier P¹, Gaël Belliot¹

¹ *National Reference Center for Enteric Viruses, Public Hospital of Dijon, France*

² *Lab of Infectious Diseases and Biological Agents, Faculty of Pharmacy, Monastir, Tunisia*

³ *Epidemiology and Infection Control Unit, Public Hospital of Dijon, Dijon, France*

⁴ *Pediatric Department, University Hospital Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisia*

⁵ *Department of Community Medicine, Monastir Medical School, Monastir, Tunisia*

Des échantillons de salive de 114 enfants tunisiens atteints de gastroentérite ont permis la détermination du phénotype HBGA. Le rotavirus a été retrouvé chez 32 patients. La détermination du génotype sécréteur a montré que le rotavirus infectait aussi bien les sécréteurs que les non sécréteurs. Par contre l'infection par **le rotavirus P[8] était corrélée avec la présence de l'antigène Lewis** (P=0.017, régression logistique).

Soumis à publication et présenté au 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.

6.1.8. Mécanismes de migration des lymphocytes B vers la muqueuse intestinale après immunisation mucoale.

- **Competitive homing of rotavirus-specific memory b cells towards the gut-associated lymphoid tissues.**

Agnello D¹, Denimal D¹, Pitoiset C¹, Lavaux A¹, Pothier P¹.

¹, *Laboratoire de Virologie et Centre National de Référence des Virus Entériques, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, 21070 Dijon Cedex, France;*

6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.

Les cellules B mémoire jouent un rôle majeur dans les réponses immunitaires humorales secondaires, cependant les molécules d'adressage qui guident leur recirculation parmi les différents organes restent encore largement méconnues. Dans un précédent travail nous avons montré que l'immunisation à l'aide de pseudo-particules virales (*viral-like particles*, VLP) recombinantes de rotavirus (RV), administrées par voie intra-rectale chez la souris, induit des plasmocytes sécrétant des anticorps de type IgA spécifiques de l'antigène, qui expriment l'intégrine $\alpha_4\beta_7$ à des niveaux très élevés et qui sont ainsi capables de migrer au niveau de la muqueuse intestinale, non seulement du colon mais aussi de l'intestin grêle (Agnello *et al.*, *J Immunol.*, 2013, 190: 4836-47). En conséquence leur nombre est considérablement diminué dans l'intestin de souris génétiquement déficientes en intégrine β_7 , immunisées par voie intra-rectale. En revanche, les plasmocytes sécrétant IgA induites après immunisation par voie intra-nasale n'expriment pas d'intégrine $\alpha_4\beta_7$ et sont donc pour la plupart exclus de la muqueuse intestinale. Paradoxalement, chez les souris déficientes pour l'intégrine β_7 immunisées par voie intra-nasale, le nombre des cellules sécrétant des IgA spécifiques au RV est même augmenté dans la muqueuse intestinale par rapport aux souris témoins, ce qui démontre que la migration des leucocytes dans les tissus est un processus hautement compétitif et que l'intégrine $\alpha_4\beta_7$ ne détermine pas seulement le tropisme intestinale des lymphocytes activés au niveau des tissus lymphoïdes associés aux intestins, mais aussi l'exclusion des lymphocytes activés dans d'autres sites.

Dans ce travail nous avons comparé la distribution des cellules B mémoire induites par l'immunisation intra-rectale à l'aide des VLP par rapport à d'autres voies d'immunisation. Alors que chez les souris immunisées par voie intra-nasale ou sous-cutanée seulement le 40% des cellules B mémoire spécifiques au RV expriment $\alpha_4\beta_7$, pratiquement toutes les cellules B mémoire induites après immunisation par voie intra-rectale sont $\alpha_4\beta_7^+$. Par conséquent, chez les souris immunisées par voie intra-rectale, les cellules B mémoire spécifiques de l'antigène recirculent préférentiellement parmi les tissus lymphoïdes associés aux intestins, tel que les plaques de Peyer ou les ganglions mésentériques, mais sont largement exclues des tissus lymphoïdes extra-intestinaux. De plus, nous avons trouvé que les cellules B mémoire spécifiques de l'antigène sont significativement réduites au niveau des ganglions mésentériques chez les souris déficientes en intégrine β_7 immunisées par voie intra-rectale. De même, le transfert adoptif de cellules B mémoire isolées à partir de souris déficientes pour l'intégrine β_7 et précédemment immunisées avec des VLP par voie intra-rectale, génère moins de plasmocytes au niveau des plaques de Peyer des souris receveuses après infection orale avec du RV murin, mais un plus grand nombre de

plasmocytes dans la rate, par comparaison avec le transfert de cellules B mémoire de souris témoin.

En revanche, les cellules B mémoire spécifiques de l'antigène sont significativement augmentées au niveau des ganglions mésentériques de souris déficientes en $\beta 7$ immunisées par voie intra-nasale, ce qui suggère que la compétition entre lymphocytes $\alpha 4\beta 7^+$ et $\alpha 4\beta 7^-$ jouerait un rôle important non seulement dans l'adressage des plasmocytes sécrétant IgA vers la lamina propria du grêle et du colon, mais encore dans la recirculation des cellules B mémoire parmi les tissus lymphoïdes associés aux intestins.

6.2. PUBLICATIONS EN LIEN AVEC LES ACTIVITES DU CNR (2014)

6.2.1. Publications internationales :

1. Page AL, Jusot V, Mamaty AA, Adamou L, **Kaplon J, Pothier P**, Djibo A, Manzo ML, Toure B, Langendorf C, Collard JM, Grais RF. Rotavirus surveillance in urban and rural areas of Niger, April 2010-March 2012. *Emerg Infect Dis*. 2014 Apr;20(4):573-80.
2. Hassine-Zaafrane M, Sdiri-Loulizi K, **Kaplon J**, Ben Salem I, **Pothier P**, Aouni M, **Ambert-Balay K**. Molecular detection of human noroviruses in influent and effluent samples from two biological sewage treatment plants in the region of Monastir, Tunisia. *Food Environ Virol*. 2014 Jun;6(2):125-31.
3. Ronchetti AM, Henry B, **Ambert-Balay K, Pothier P**, Decroocq J, Leblond V, Roos-Weil D. Norovirus-related chronic diarrhea in a patient treated with alemtuzumab for chronic lymphocytic leukemia. *BMC Infect Dis*. 2014 May 6 ; 14 : 239.
4. Hassine-Zaafrane M, Ben Salem I, Sdiri-Loulizi K, **Kaplon J**, Bouslama L, Aouni Z, Sakly N, **Pothier P**, Aouni M, **Ambert-Balay K**. Distribution of G (VP7) and P (VP4) genotypes of group A bovine rotaviruses from Tunisian calves with diarrhoea. *J Appl Microbiol*. 2014 Jun;116(6):1387-95.
5. **Belliot G**, Lopman BA, **Ambert-Balay K, Pothier P**. The burden of norovirus gastroenteritis: an important foodborne and healthcare-related infection. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Aug;20(8):724-30.
6. **Pothier P**, Kaiser L. Norovirus disease today. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Aug;20(8):716.
7. Colas de la Noue A, **Estienney M**, Aho S, Perrier-Cornet JM, **de Rougemont A, Pothier P**, Gervais P, **Belliot G**. Absolute humidity influences the seasonal persistence and infectivity of human norovirus. *Appl Environ Microbiol*. 2014 : 80 (23), 7196-7205.
8. Phan TG, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, **Ambert-Balay K, Pothier P**, Deng X, Delwart E. New parvovirus in child with unexplained diarrhea, Tunisia. *Emerg Infect Dis*. 2014 Nov;20(11):1911-3.
9. Makaya JM, **Kaplon J, Fremy C**, Barro N, Aho S, **Pothier P, Belliot G**, Traoré AS. Norovirus and Rotavirus Survival in Urine Collected from a Public Ecological Sanitation System in Ouagadougou, Burkina Faso. *Food Environ Virol*. 2015 Mar;7(1):41-8.
10. Sykora S, Cumbo A, **Belliot G, Pothier P**, Arnal C, Dudal Y, Corvini PF, Shahgaldian P. Virus-like particles as virus substitutes to design artificial virus-recognition nanomaterials. *Chem Commun (Camb)*. 2015 Feb 11;51(12):2256-8.
11. **Kaplon J**, Cros G, **Ambert-Balay K**, Leruez-Ville M, Chomton M, **Fremy C, Pothier P**, Blanche S. Rotavirus vaccine virus shedding, viremia and clearance in infants with severe combined immune deficiency. *Pediatr Infect Dis J*. 2015 Mar;34(3):326-8.
12. Arena C, Amoros JP, Vaillant V, **Ambert-Balay K**, Chikhi-Brachet R, Jourdan-Da Silva N, Varesi L, Arrighi J, Souty S, Blancho T, Falchi A, Hanslik T. Acute diarrhea in adults consulting a general practitioner in France during winter: incidence, clinical characteristics, management and risk factors. *BMC Infect Dis*. 2014 Oct 30;14(1):574
13. Barret AS, Jourdan-Da Silva N, **Ambert-Balay K**, Delmas G, Bone A, Thiolet J-M, Vaillant V. Surveillance for outbreaks of gastroenteritis in elderly long-term care facilities in France, November 2010 to May 2012. *Eurosurveillance* 2014 July 24; 19(29)
14. Loury P, Le Guyader FS, Le Saux JC, **Ambert-Balay K**, Parrot P, Hubert B. An norovirus oyster-related outbreak in a nursing-home in France, January 2012. *Epidemiol Infect* 2015 Jan 8:1-8.
15. Caddy SL, **de Rougemont A**, Emmott E, El-Attar L, Mitchell JA, Hollinshead M, **Belliot G**, Brownlie J, Le Pendu J, Goodfellow I. Evidence for human norovirus infection of dogs in the UK. *J Clin Microbiol*. 2015 Apr 1. pii: JCM.02778-14.
16. Vashist S, Urena L, Gonzalez-Hernandez MB, Choi J, **de Rougemont A**, Rocha-Pereira J, Neyts J, Hwang S, Wobus CE, Goodfellow I. The molecular chaperone Hsp90 is a therapeutic target for noroviruses. *J Virol*. 2015 Apr 8. pii: JVI.00315-15.

Articles soumis à publication:

1. *Gaspar P, Ambert-Balay K, Mosnier A, Aho-Glélé A, Roth C, Larocca S, Simon L, Talon D, Rabaud C, Pothier P. Burden of gastroenteritis outbreaks: specific epidemiology in a cohort of institutions caring for dependent people.*
2. *Ng TF, Zheng W, Sachsenröder J, Kondov NO, da Costa AC, Vega E, Mulvaney US, Muench MO, Xutao Deng, Ambert-Balay Katia, Pierre Pothier, Jan Vinje, Eric Delwart. Small circular DNA viral genomes from unexplained gastroenteritis outbreaks in the United States and France and in captive non-human primates.*
3. *Gia Phan T, da Costa AC, Wen Z, Pothier P, Ambert-Balay K, Deng X, Delwart E. New gyrovirus in feces of a patient with diarrhea.*

4. **Ayouni S, Sdiri-Loulizi K, de Rougemont A, Estienney M, Ambert-Balay K, Aho S, Hammami S, Aouni M, Néji Guédiche M, Pothier P, Gaël Belliot.** Rotavirus P[8] infections in secretor and non-secretor individuals.
5. **Ayouni S, Estienney M, Sdiri-Loulizi K, Ambert-Balay K, de Rougemont A, Aho S, Hammami S, Aouni M, Néji Guédiche M, Pothier P, Gaël Belliot.** Relationship between Norovirus infections and blood group antigens in children.
6. **Saugeon C, Fournier B, Blaizeau F, Ambert-Balay K, Lasserre A, Grisoni M-L, Falchi A, Arena C, Blanchon T, Prazuck T.** Impact of alcohol-based hand sanitizer on acute diarrhea acquired in general practitioner's waiting rooms of offices: A cluster randomized-controlled intervention study

6.2.2. Communications internationales

1. Ouedraogo N, **Kaplon J**, Bounkougou I J.O, **Fremy C**, Traore AS., **Pothier P**, Barro N, **Ambert-Balay K**. Rotavirus genotypes during pre-vaccine period in ouagadougou, burkina faso. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
2. Alaoui Amine S, **Kaplon J**, Melloul M, **Ambert-Balay K**, Loutfi C, Doblali T, Touil N, Elfahime El Mustapha¹, **Pothier P**. Partial genomic analyses of moroccan caprine rotavirus strains provide evidence for interspecies transmission. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
3. Doblali T, Touil N, **Kaplon J, Ambert-Balay K**, Agadr A, El Hamzaoui S, **Pothier P**. Clinical and molecular descriptions of rotavirus in morocco 2 years after rotarix introduction. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
4. **Ayouni S, Sdiri-Loulizi K, De Rougemont A, Estienney M, Ambert-Balay K**, Aho S, Hamami S, Aouni M, Neji-Guediche M, **Pothier P, Belliot G**. Relationship between rotavirus infection and blood group antigens. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
5. **Agnello D**, Denimal D, **Pitoiset C, Lavaux A, Pothier P**. Competitive homing of rotavirus-specific memory b cells towards the gut-associated lymphoid tissues. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
6. **De Rougemont A, Kaplon J, Fremy C**, Aho-Glele LS, **Pothier P**, The French Rotavirus Network. Transient emergence of g12 rotaviruses in french infants. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
7. **Kaplon J, Fremy C**, Mendes Martins L, Pillet S, **Ambert Balay K**, Aho S, **Pothier P**. Diagnostic accuracy of seven commercial assays for the rapid detection of group a rotavirus antigens. 6th European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.

6.2.3. Communications sur invitation

En France :

1. Les vaccins rotavirus couverture vaccinale en 2014 et impact sur l'épidémiologie virale. Congrès SFM : actualités en vaccinologie, 1^{er} avril 2014, Paris
2. Infections à Norovirus. Journées Internationales de Biologie, 9 octobre 2014, Paris.
3. Hépatites A, E et norovirus : symptômes et épidémiologie. 4^{ème} Rencontre Scientifique, Casino – Silliker, 5 février 2015, Paris

7. COOPERATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTE ANIMALE, D'HYGIENE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX

7.1. COOPERATIONS STRUCTURELLES DANS LE CADRE DE NOS ACTIVITES DE SURVEILLANCE ET D'ALERTE

InVS : nos interlocuteurs sont les Dr Nathalie JOUDAN-DA SILVA et Nelly FOURNET

Réseau Sentinelle : Notre interlocuteur le Dr Mathieu RIVIERE.

IFREMER - Centre de Nantes (Dr Soizic LE GUYADER) : laboratoire de référence pour les virus entériques dans les **produits de la mer**. Nous collaborons étroitement et en temps réel pour tous les cas groupés de 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, Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons Alfort (Dr Sylvie PERELLE) : laboratoire de référence pour **l'eau et les aliments**. Nous collaborons avec ce laboratoire pour tous les cas groupés de 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).

7.2. COOPERATIONS DANS LE CADRE DE PROJETS DE RECHERCHE

7.2.1. Coopérations universitaires

Le projet « Spicclean » est terminé en 2013. Ce projet nous a permis de développer une collaboration étroite avec le **Laboratoire de Génie des Procédés Alimentaires et Microbiologiques, Agro Sup Dijon**, Esplanade Erasme, 21000 Dijon, France. Cette collaboration s'est déjà concrétisée dans le cadre d'un vaste projet soutenu par la Région Bourgogne. Elle devrait conduire à l'intégration de notre équipe de recherche dans ce laboratoire.

7.2.2. Projets LABEX et ANR déposé en 2014

Projet « Open Science » de la Fondation Agropolis (Montpellier) (projet financé en 2014)

La raréfaction de l'eau ou stress hydrique devient un problème de plus en plus important en particulier dans les pays méditerranéens. L'économie des ressources aquifères est donc essentielle, elle passe par exemple par l'utilisation d'eaux traitées pour l'irrigation des sols. La réutilisation d'eaux traitées pose évidemment des problèmes sanitaires où la contamination accidentelle par des virus entériques est à craindre. Dans ce projet, plusieurs méthodes d'irrigation vont être testées pour évaluer le devenir des virus entériques dans l'environnement sur le site de Clermont-Ferrand. Dans ce projet coordonné par la station INRA d'Avignon, le CNR sera en charge de la détection et la quantification des virus entériques, en particulier des norovirus, dans l'eau (eaux noires, eaux recyclées, eaux de surface et souterraine) et dans les sols agricoles lors d'expériences effectuées sur le terrain. Dans le cadre du projet, le financement d'un étudiant en thèse a été obtenu. Basé sur la station INRA, il sera détaché quelques mois au CNR.

Liste de nos partenaires dans ce projet :

- INRA (Avignon). UMR 1114 EMMAH (Environnement Méditerranéen et Modélisation des Agro-Hydrosystèmes)
- IRSTEA (Montpellier). UMR G-EAU
- Université Technion (Haifa, Israël). Laboratory for Molecular Biology of Pathogens.

Projet ANR 2014, Acronyme : W2REUSE :

Réutilisation des eaux usées traitées en irrigation agricole: une approche intégrée combinant traitement de l'eau, devenir environnemental des virus entériques, évaluation des risques microbiens et une analyse coûts-bénéfices. **Ce projet a été pré-sélectionné.**

Ce projet nous permettra de collaborer avec plusieurs équipes dont deux impliquées dans la microbiologie alimentaire ou l'environnement, principalement :

- INRA d'Avignon spécialisée dans l'environnement : Environnement Méditerranéen et Modélisation des Agro-Hydrosystèmes (EMMAH), UMR1114, INRA et Université d'Avignon (Courault Dominique, Renault Pierre).
- L'ANSES de Maisons-Alfort, l'Unité de Virologie des Aliments (PERELLE Sylvie)
- SUEZ ENVIRONNEMENT (LAZAROVA Valentina)

Mais également :

- L'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (AMATO Pierre)
- L'unité de Mathématiques et Informatiques Appliquées, UMR 518, Institut National de la Recherche en Agronomie (INRA) Centre Versailles Grignon (ALBERT Isabelle)
- Le Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives – LETI (ROUX Jean-Maxime)
- Le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BOUZIT Madjid)

7.2.3. Conclusion sur nos coopérations

Nos activités de surveillance nous ont conduites à collaborer régulièrement avec l'IFREMER et l'ANSES. Nos participations à des contrats de recherche, ANR ou autres nous ont permis de collaborer avec d'autres laboratoires avec lesquels nous avons conservé des contacts. Outre les laboratoires déjà cités, il faut mentionner l'unité de Microbiologie Environnementale, du Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'Environnement, Université de Lorraine à Nancy (Pr Christophe GANTZER).

Parallèlement à ce réseau national, nous avons recherché à mieux insérer notre CNR dans le contexte scientifique local travaillant dans les domaines de la microbiologie alimentaire ou de l'environnement. Ainsi, notre collaboration avec le laboratoire de **Génie des Procédés Alimentaires et Microbiologiques** (Pr Patrick GERVAIS) se poursuivra, notamment dans le cadre d'un vaste projet soutenu par la Région Bourgogne. Un des objectifs sera d'étudier l'importance de l'humidité, de la température et de l'exposition à la lumière sur la survie des virus entériques.

Par ailleurs, nous nous sommes rapprochés de l'**UMR Agroécologie de l'INRA Dijon** où nous trouvons certaines complémentarités, notamment avec sa composante parasitologie médicale, et une mutualisation possible de moyens.

8. PROGRAMME D'ACTIVITE POUR LES ANNEES SUIVANTES

8.1. ACTIVITES D'EXPERTISE

8.1.1. Evaluation de trousse de diagnostic

- **Diagnostic des norovirus :**

Nous poursuivrons notre **évaluation des nouvelles trousse de diagnostic par immunochromatographie**. Les évaluations que nous avons jusqu'à présent pratiquées ne montrent pas une sensibilité satisfaisante, néanmoins les firmes poursuivent le développement et l'amélioration de ces trousse. Nous sommes déjà engagés dans l'évaluation d'une nouvelle trousse et nous participons avec un autre industriel à l'élaboration d'une nouvelle trousse.

Nous avons la même démarche pour les **trousse de biologie moléculaire**.

- **Diagnostic de rotavirus :**

Contrairement au diagnostic des norovirus, les méthodes d'immunochromatographie sont très satisfaisantes en termes de sensibilité. Nous avons effectué en 2014 une évaluation de 7 trousse de diagnostic accessibles au marché hospitalier. Nous poursuivons cette veille et développerons des évaluations des trousse de diagnostic par biologie moléculaire.

- **Diagnostic des pathogènes entériques :**

Plusieurs fournisseurs développent une **approche « syndromique »** du diagnostic en recherchant tous les pathogènes entériques en une seule analyse. Outre l'aspect technique de ces réactifs, nous évaluons l'aspect stratégique de leur utilisation afin de définir et limiter les indications de ces réactifs coûteux.

8.1.2. Développement du séquençage haut débit

Ces techniques se développent en virologie. Nous avons un séquenceur Roche à disposition dans le laboratoire et accès à un séquenceur Illumina sur le pôle de biologie. Nous développerons cette technique pour la détection et la caractérisation des virus dans les selles des patients en ciblant les indications. Nos investigations concernent principalement: (i) les immunodéprimés sans étiologie avec les méthodes classiques ; (ii) la recherche de nouveaux variants émergents notamment pour les rotavirus et norovirus. Enfin, nous poursuivons notre collaboration avec l'équipe d'Eric DELWART (University of California et San Francisco, USA) qui a déjà permis la caractérisation de virus non encore décrits.

8.1.3. Investigations virologiques spécifiques

- **Les immunodéprimés :**

Nous poursuivrons 1) la surveillance en collaboration avec les établissements qui collaborent avec nous sur ce sujet, et 2) l'investigation virologique de cas précis tels qu'ils se sont présentés pour les deux enfants SCID (cité paragraphe 2.2.3.3.)

- **Le transfert de flore fécale :**

Cette technique thérapeutique se développe et pourrait s'étendre à d'autres indications, au moins dans le cadre de programmes de recherche. Notre CNR s'est organisé pour répondre aux exigences de temps et de diversité du diagnostic.

- **Les diarrhées chez les enfants vaccinés :**

Nous recevons quelques échantillons de selles chez des enfants ayant présenté une diarrhée soit au décours d'une vaccination, nous caractérisons alors le rotavirus pour savoir

s'il s'agit de la souche vaccinale, soit à distance de la vaccination et dans ce cas nous caractérisons le rotavirus pour déterminer s'il s'agit d'un génotype particulier sur lequel la vaccination pourrait être non protectrice.

8.2. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

8.2.1. Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à rotavirus

La surveillance des gastro-entérites infantiles sera poursuivie avec les 15 centres métropolitains. Nous tenterons d'impliquer des centres d'Outre-Mer, nos actions ont commencé en 2013 dans l'île de la Réunion. Elles se sont amplifiées en 2014.

La poursuite de cette surveillance est importante et elle s'intègre dans une surveillance plus large, au niveau européen avec notre participation au réseau EuroRotaNet.

Par ailleurs, nos collaborations avec nos **partenaires d'Afrique** seront poursuivies afin de mieux surveiller les souches en capacité d'émergence en France.

8.2.2. Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à norovirus

La surveillance des souches de norovirus et l'étude de leur évolution **reste un de nos objectifs prioritaires pour 2015.** Notre collaboration avec les délégations territoriales des ARS et des CIRE nous permettent de recevoir les épidémies qui surviennent sur l'ensemble de la Métropole.

Nous poursuivons nos **partenariats traditionnels** comme l'IFREMER, l'ANSES et les autres CNR, mais également avec **d'autres instituts** tels que l'INRA, AgroSup, ADRIA pour des recherches plus ponctuelles sur l'environnement ou la contamination des aliments.

8.3. CONTRIBUTION A L'ALERTE

Les procédures d'alerte seront poursuivies selon une procédure formalisée et actualisée.

Tous événements apparaissant anormal ou nécessitant une discussion avec les épidémiologistes sont transmis à l'InVS via nos contacts.

Les alertes européennes concernant les risques alimentaires sont diffusées par internet par le réseau FBVE-Net. L'InVS, ANSES et IFREMER sont également informées et par les mêmes voies que notre CNR.

8.4. ACTIVITE D'INFORMATION, FORMATION ET CONSEIL.

8.4.1. Site web

Le site web est pour nous un moyen de communication ou d'information important. Il détaille les conditions de prélèvements de selles, de leur conservation et de leur acheminement au CNR. Le lien web simplifié est www.cnr-ve.org . Il est aujourd'hui complètement sous notre responsabilité et son actualisation pris en charge par l'un d'entre nous (Dr de ROUGEMONT Alexis) ce qui facilite son actualisation.

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 conférences et séminaires est planifiée pour 2015 (2 interventions en juin 2015). Des enseignements postuniversitaires, publications didactiques sont également envisagée.

8.4.4. Colloques et réunions scientifiques

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

Nous organiserons le « **6th European Rotavirus Biology Meeting** » du **17 au 20 mai 2015 à Dijon**. Cette conférence réunira les spécialistes européens travaillant sur les rotavirus. Mais au-delà, des chercheurs venus du Japon, d'Afrique et d'Amérique (USA et Amérique du Sud), soit plus de 100 participants

Site web : <https://www.etches.com/ehome/103516>.