

**Rapport annuel d'activité**

**2017**

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

**Années d'exercice  
2016**



# 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 SPF dans le domaine des gastro-entérites virales. En France comme en Europe, les gastro-entérites virales posent surtout un problème de morbidité, mais qui est polymorphe. 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 2016

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** pour diffuser une information précise sur les trousse de diagnostic des infections à norovirus et à rotavirus. En 2016, nous avons évalué la sensibilité et la spécificité des réactifs par immunochromatographie pour la détection du nouveau norovirus de génotype GII.17. Nous avons évalués de même pour les réactifs moléculaires. Les résultats nous permettent un conseil avisé aux collègues qui nous contactent.

- **Investigations virologiques chez les immunodéprimés.** Nous apportons notre expertise dans le diagnostic et le suivi de ces patients. Nous avons suivi 265 patients immunodéprimés en 2016.

- **Entérocrites ulcéro-nécrosantes** : Nous répondons aux demandes d'enquête virologique émanant des services de pédiatrie ou de santé publique.

- **Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal.** Nous apportons notre expertise aux institutions en charge de la réglementer et aux cliniciens utilisant ce traitement (transfert technique et conseils)

### • Gastroentérites infantiles à rotavirus

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 2001-2002. Les principaux résultats sont : une **variabilité cyclique des génotypes G1, G2, G3 G4 et G9**, une **grande variabilité géographique**.

**Les points significatifs durant la saison 2015-2016 sont la ré-émergence du génotype G9P[8] (66%). On retrouve une situation comparable à la saison 2004-2005.** Le génotype G1P[8] moins fréquent cette saison (16,8%) reste le premier génotype toutes saisons confondues. Le génotype G12P[8] potentiellement en émergence et « à surveiller » reste présent mais stable depuis son émergence avec une fréquence de 2,6%.

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

Le CNR des virus entériques en collaboration avec SPF, les CIRE et les ARS réalise les investigations virologiques s'intégrant dans la prise en charge épidémiologique globale de ces épidémies.

- La modification majeure de ces deux saisons hivernales de surveillance (2015-2016 et 2016-2017) a été l'émergence du **génotype GII.17** lors de la saison hivernale 2015-2016 (129 épidémies à GII.17 contre 42 au GII.4 2012) et son remplacement **fin 2016 (saison 2016-2017) par des nouveaux recombinauts (GII.16/ GII.4 2012 et GII.16/ GII.2)** ayant une polymérase proche du génotype GII.16

- 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 ont fait l'objet de **12 publications dans des journaux à comité de lecture depuis janvier 2016: 2 publications à diffusion nationale, 10 publications internationales.** De plus, 1 publication est soumise et 3 conférences ont été effectuées en tant que membre invité.

# SOMMAIRE

1	Missions et organisation du CNR des virus entériques .....	1
1.1.	Objectifs spécifiques du CNR des virus entériques (entérovirus exclus) .....	1
1.1.	L'équipe et l'organisation du CNR .....	1
1.1.1.	Fiche d'identité du CNR .....	1
1.1.1.	L'équipe du CNR (2016) .....	1
2.	ACTIVITES D'EXPERTISE .....	2
2.1.	Evolution des techniques du CNR .....	2
2.1.1.	Techniques développées ou en développement .....	2
2.1.2.	Evaluation des trousse de diagnostic .....	3
2.1.3.	Transfert des techniques à d'autres laboratoires .....	3
2.1.4.	Collection de souches, antigènes ou anticorps de référence (annexe 2).....	4
2.2.	Activités d'expertise du CNR en 2016 .....	4
2.2.1.	Investigations virologiques des épidémies.....	4
2.2.1.1.	Aspect quantitatif des investigations.....	4
2.2.1.2.	Principales souches virales caractérisées. ....	5
2.2.1.3.	Conclusions sur les virus entériques caractérisés.....	7
2.2.2.	Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal.....	7
2.2.3.	Investigations virologiques de cas sporadiques.....	7
2.2.3.1.	Entérocolites ulcéro-nécrosantes .....	7
2.2.3.2.	Surveillance de patients immunodéprimés .....	7
3.	ACTIVITES DE SURVEILLANCE .....	9
3.1.	Surveillance épidémiologique des gastro-entérites a rotavirus .....	9
3.1.1.	Réseau de partenaires et répartition géographique .....	9
3.1.2.	Bilan de la surveillance de la saison 2016-2016 .....	9
3.1.2.1.	Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus :.....	9
3.1.2.2.	Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P :.....	10
3.1.2.3.	Analyse séparée de la répartition des géotypes G ou P : .....	12
3.1.2.4.	Variations temporo-spatiales des combinaisons de géotypes G/P .....	14
3.1.3.	Conclusion.....	18
3.2.	Surveillance des cas groupés de gastro-entérites.....	19
3.2.1.	Réseau de partenaires et répartition géographique .....	19
3.2.2.	Provenance des échantillons .....	20
3.2.3.	Caractéristiques des épidémies (2012 – 2016) .....	20
3.2.3.1.	Saisonnalité des épidémies .....	20
3.2.3.2.	Sites et modes de transmission .....	21
3.2.3.3.	Virus en cause (Figures 17 à 19).....	26
3.3.	Participation aux réseaux de surveillance internationaux.....	31
3.3.1.	Réseau internationaux « FBVE-Net », NoroNet » et « EuroRotaNet ».....	31

3.3.2.	Réseaux avec les pays Africains .....	31
3.3.2.1.	Réseau avec le Maghreb (2016 : Tunisie). .....	31
3.3.2.2.	Programme d'Appui à la Recherche en Réseau en Afrique (PARRAF) .....	32
3.4.	Etudes ponctuelles concourant à la surveillance .....	32
3.4.1.	Suivi des établissements long séjour du CHU de Dijon .....	32
3.4.2.	Caractérisation de nouveaux virus dans les selles de patients.....	32
4.	ALERTE .....	33
4.1.	CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE (SPF).....	33
4.2.	PROCEDURES D'ALERTE DE SPF ET DES AUTRES PARTENAIRES.....	33
4.2.1.	Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (par une ARS, un laboratoire..) : .....	33
4.2.2.	Arrivée de prélèvements sans annonce préalable : .....	33
4.3.	DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE .....	33
4.3.1.	Transmission des données à SPF .....	33
4.3.1.1.	Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo : .....	33
4.3.1.2.	Rendu des résultats à SPF : .....	33
4.3.2.	Anonymisation des prélèvements .....	33
5.	Activités d'information, de formation et de conseil.....	35
5.1.	Site web .....	35
5.2.	Activité de conseil .....	35
5.3.	Activité de formation .....	35
5.4.	Colloques et réunions scientifiques .....	35
6.	Travaux de recherche et publications en lien avec l'activité du CNR .....	36
6.1.	Activités de recherche en lien avec les missions du CNR.....	36
6.1.1.	Etudes appliquées : Evaluation de réactifs pour la détection des norovirus dont le nouveau génotype GII.17 .....	36
6.1.2.	Etudes épidémiologiques en France et Europe:.....	36
6.1.2.1.	Epidémiologie moléculaire des norovirus et évolution des souches.....	36
6.1.2.2.	Epidémiologie moléculaire des rotavirus. ....	36
6.1.2.3.	Epidémiologie des gastro-entérites communautaires et en institutions. ....	36
6.1.2.4.	Epidémiologie des gastro-entérites liée à la consommation d'aliment.....	36
6.1.3.	Etudes de cas cliniques.....	37
6.1.4.	Epidémiologie en Afrique subsaharienne et Tunisie.....	37
6.1.5.	Etudes épidémiologiques chez les animaux. ....	37
6.1.6.	Recherche fondamentale en lien avec les activités de CNR : .....	37
6.2.	Publications en lien avec les activités du CNR (2016) .....	38
6.2.1.	Publications nationales : .....	38
6.2.2.	Publications internationales : .....	38
6.2.3.	Communications nationales : .....	38
6.2.4.	Communications internationales : .....	38

6.2.5.	Communications sur invitation :	38
7.	Coopération avec laboratoires de santé animale, hygiène alimentaire, environnement	40
7.1.	Coopérations structurelles dans le cadre de nos activités de surveillance et d’alerte	40
7.2.	Coopérations dans le cadre de projets de recherche	40
7.2.1.	Coopérations universitaires	40
7.2.2.	Projets LABEX, ANR et autres déposés en 2014	40
7.2.3.	Collaboration industrielle avec la société bioMérieux	40
7.2.4.	Conclusion sur nos coopérations	41
8.	Programme d’activité pour les années suivantes	42
8.1.	Activités d’expertise	42
8.1.1.	Evaluation de trousse de diagnostic	42
8.1.2.	Développement de techniques:	42
8.1.3.	Mode de constitution, de stockage et mise à disposition des collections :	43
8.1.4.	Travaux d’évaluation de techniques :	43
8.1.5.	Projets de transferts de techniques vers d’autres laboratoires:	44
8.1.6.	Recherche liées avec les missions du CNR des virus des gastro-entérites:	44
8.2.	Activités de surveillance	45
8.2.1.	Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à rotavirus	45
8.2.2.	Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à norovirus	45
8.3.	Contribution à l’alerte	45
8.4.	Activité d’information, formation et conseil.	46
8.4.1.	Modalités de diffusion de l’information	46
8.4.2.	Collaboration et expertises auprès d’instances nationales ou internationales	46
8.4.3.	Activité de formation	46

# 1 Missions et organisation du CNR des virus entériques

Les missions et l'organisation du CNR des virus entériques (à l'exclusion des entérovirus) sont détaillées dans l'annexe 1. Elles avaient été définies dans le cahier des charges spécifiques du CNR paru en janvier 2011 pour la période 2012-2016.

A ce niveau nous n'aborderons que les modifications intervenues en 2016.

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

Les **objectifs de surveillance** sont principalement les gastro-entérites infantiles à rotavirus et les cas groupés de gastro-entérites principalement dues aux norovirus. Nous participons aux **réseaux nationaux et internationaux**, notamment européens pour optimiser nos actions de surveillance et d'alerte.

Aux **objectifs d'expertise classiques** de notre CNR, nous avons ajouté une aide au « diagnostic décentralisé » : (1) évaluation des réactifs de diagnostic des virus entériques, principalement rotavirus et norovirus, (2) aide aux industriels pour le développement de réactifs de diagnostic moléculaire ou immunochromatographique et (3) aide aux laboratoires publics (aide directe ou transfert de compétence) pour la surveillance des gastro-entérites chez les immunodéprimés et les investigations virologiques avant transfert de flore fécale (selon les recommandations de l'ANSM).

## 1.1. L'équipe et l'organisation du CNR

### 1.1.1. 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](mailto:elisabeth.beau@chu-dijon.fr)

### 1.1.1. L'équipe du CNR (2016)

L'équipe du CNR n'a pas été modifiée en nombre d'ETP depuis 2012.

Les modifications survenues durant la période 2012 – 2015 sont :

Il n'y a pas eu de modification ni au niveau des biologiste ou ingénieur, ni au niveau de l'équipe de technicien(ne)s. De même, au niveau du secrétariat (1ETP) (Madame Catherine ROYER avait été remplacée par Madame Alexandra LIOTIER en 2015).

## 2. ACTIVITES D'EXPERTISE

### 2.1. Evolution des techniques du CNR

#### 2.1.1. Techniques développées ou en développement

Nous disposons de toutes les techniques de **biologie moléculaire (PCR en point final, PCR en temps réel et séquençage)** permettant le diagnostic et la caractérisation génotypique des virus connus pour être responsables de gastro-entérites. Les analyses des séquences virales sont réalisées à l'aide de logiciels tels que « Codon Code Aligner » et « Bionumerics » avec la base de données GenBank et une base de données spécifique du réseau européen continuellement mise à jour avec les souches caractérisées dans ce cadre.

Nous utilisons :

- Les **techniques mutualisées d'extraction automatisées** sur EasyMag® (Biomérieux) **optimisées pour l'extraction dans les selles des génomes des virus, des parasites et des bactéries en une seule prise d'essai**
- des techniques de **PCR en temps réel** pour quantifier les **norovirus murin**, les **norovirus humains** GI et GII et les **rotavirus**. Ces techniques sont utilisées entre autre pour **quantifier les virus excrétés** dans les selles de **patients immunodéprimés comme les transplantés et cela afin d'adapter les traitements ou suivre la reconstitution immunologique**.
- Depuis 2013 nous disposons d'un accès aux **séquenceurs haut débit** (Roche GS Junior et Illumina MiSeq) de la plate-forme hospitalière.
- Nous maîtrisons les techniques de **culture cellulaire du norovirus murin** et nous utilisons ce virus très proche des norovirus humains comme substitut dans les évaluations des désinfectants et des antiseptiques.
- Toutes les techniques immunologiques (ELISA, **Cytométrie en flux**, **ELISPOT**) pour la détection des antigènes viraux ou réaliser des études sur la réponse immune aux infections entériques.
- Nous avons adapté à la culture cellulaire les nouvelles souches de **virus Aichi**. Aujourd'hui, nous avons une collection des différentes souches et un stock d'antigène pour la réalisation de **tests sérologiques pour le virus Aichi**. Ces stocks d'antigènes viraux sont nécessaires aux enquêtes de prévalence que nous conduisons en France et dans les pays du bassin Méditerranéen ou d'Afrique.
- Par ailleurs, nous avons accès à un service de **microscopie électronique à transmission et à balayage** par une convention entre le CHU et l'INRA.

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

- détection des adénovirus par PCR en temps réel
- détection des virus Aichi par RT-PCR en point final
- détection des astrovirus par RT-PCR en temps réel
- détection des bocavirus par PCR en temps réel
- détection des coronavirus par RT-PCR en point final
- détection des rotavirus du groupe A par RT-PCR en temps réel
- génotypage des rotavirus groupe A par RT-PCR one-step en point final
- détection des norovirus par RT-PCR en temps réel
- détection des sapovirus par RT-PCR en temps réel

## 2.1.2. Evaluation des trousse de diagnostic

Entre 2012 et 2015 nous avons évalué les trousse de diagnostic des norovirus par immunochromatographie et par RT-PCR en temps réel et celles pour des rotavirus par immunochromatographie. Résultats publiés dans *J. Clin Virol* (2013) et *J Clin Microbiol* (2015)

**En 2016, nous avons évalué les trousse de diagnostic des norovirus vis-à-vis du génotype émergent GII.17.** Les norovirus GII.17 sont devenus le génotype majeur en Asie en 2014/2015 (*Euro Surveill.* 2015; 20(26)) puis en Europe. Nous avons donc évalué contre ce GII.17 les réactifs de diagnostic des norovirus par Immunochromatographie disponibles en Europe (*Euro Surveill.* 2016, 21(4)). Les résultats sont présentés dans le tableau 2, ci-dessous.

N° GII.17	Titre*	RidaQuick Norovirus	Simple Norovirus	Immunocatch Norovirus	Actim Noro	Immunoquick Norovirus	SD BioLine Norovirus	Nadal Norovirus I+II
A	3,51x10 <sup>10</sup>	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
B	1,55x10 <sup>10</sup>	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
C	1,34x10 <sup>10</sup>	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif	Négatif
D	1,35x10 <sup>9</sup>	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
E	6,89x10 <sup>8</sup>	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif
F	4,88x10 <sup>8</sup>	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
G	9,39x10 <sup>6</sup>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
H	6,54x10 <sup>6</sup>	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
I	4,90x10 <sup>5</sup>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
J	1,12x10 <sup>4</sup>	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

**Tableau 1 :** Les 7 trousse de diagnostic évaluées sont capables de détecter les norovirus GII.17 mais avec une sensibilité différente selon les titres de virus dans les selles. Certaines trousse nécessitent d'être améliorées pour pouvoir être utilisées en routine puisque cette nouvelle souche GII.17 semble devenir la principale souche responsable des épidémies hivernales (résultats de la saison 2015-2016).

(*RidaQuick® Norovirus* (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany), *Simple Norovirus* (Operon, S.A., Cuarte de Huerva, Zaragoza, Spain), *Immunocatch Norovirus* (Eiken Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan), *Actim Noro* (Medix Biochemica, Kauniainen, Finland), *Immunoquick Norovirus* (Biosynex S.A., Strasbourg, France), *SD BioLine Norovirus* (Standard Diagnostics, Inc., Yongin-si, Republic of Korea), *Nadal Norovirus I + II* (Nal van minden, Regensburg, Germany) ; *Immunoquick Norovirus = Norotop; ImmunoCardSTAT! Norovirus* (Meridian Bioscience Europe, Nice, France): non évalué.)

**1. l'évaluation de ces trousse de diagnostic nous permet de donner des conseils appropriés aux laboratoires de microbiologie voulant les utiliser.**

### 2.1.3. Transfert des techniques à d'autres laboratoires

- Des réactifs pour le diagnostic des norovirus et des rotavirus sont désormais commercialisés. De ce fait, la demande de transfert de techniques se pose rarement.
- Pour répondre à la demande des laboratoires français, mais aussi étrangers ou d'Outre-Mer, nous fournissons nos procédures et nous assurons un soutien technique à distance, au besoin nous accueillons un stagiaire.
- Néanmoins, la demande la plus fréquente des laboratoires français, comme étrangers, est **la fourniture de témoins positifs**. Nous disposons à cet effet d'un stock d'échantillons de selle dont le virus est parfaitement caractérisé.
- Avec l'objectif de disposer d'un contrôle externe pour les tests immunochromatographiques, nous avons développé une collection d'antigènes synthétiques sous forme de particules de synthèse (VLP) dérivées principalement des norovirus humains. Ces VLP correspondent aux principaux génotypes circulant en France, dont les derniers variants (annexe 2).

### 2.1.4. Collection de souches, antigènes ou anticorps de référence (annexe 2)

- nos prélèvements, souches caractérisées, VLP et anticorps sont disponibles gratuitement à tous les laboratoires publics qui en font la demande.
- la mise à disposition de ces matériels biologiques viraux à des sociétés privées est possible dans le cadre d'un contrat entre ces sociétés et notre établissement.

## 2.2. Activités d'expertise du CNR en 2016

### 2.2.1. Investigations virologiques des épidémies

#### 2.2.1.1. Aspect quantitatif des investigations

- **Dans la quasi-totalité des épidémies, l'alerte a été effectuée par SPF, les CIRE ou les délégations territoriales des ARS concernées.** Les prélèvements ont été transmis par des laboratoires publics ou privés, ou directement par l'établissement concerné par l'épidémie. L'acheminement a été effectué par voie postale dans la plupart des cas ou – lorsque le nombre de prélèvements le justifiait – par un transporteur agréé ayant une convention avec le CNR (société TSE, Lyon).
- **En 2016, nous avons expertisé 348 épidémies dont 290 étaient positives** pour un virus entérique **soit 83,3%** (pour 94,8% d'entre elles un norovirus était retrouvé dans les prélèvements de selles seul ou associé à un autre virus).
- Si on analyse **les 58 épidémies « négatives » (16,7%)**, on constate que pour 34 (58,6%) d'entre elles nous n'avons qu'un seul prélèvement. L'observation des données montre qu'en disposant de **3 à 4 prélèvements par épidémie nous pouvions prouver l'étiologie d'une épidémie quand elle est virale (Tableau 2).**
- **Entre 2012 et avril 2016, Nous avons expertisé 1457 épidémies et détecté un virus pour 1218 d'entre elles soit 83,6%.** On a retrouvé un norovirus seul ou associé à d'autres virus pour 90,3% de ces épidémies positives.

Épidémies année = nombre	Virus	Noro	Sapo	Rota	Adéno	Astro	Aichi	Entéro	autres	Agent inconnu
2012 = 338	Monoinfections : 266	237	5	20	4	0	0	0		59 (17,5%)
	Infections mixtes: 13	13	4	6	4	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 : 174	156	5	6	3	3	0	1		57 (23,6%)
	Infections mixtes : 11	11	6	7	5	2	1	0		
2015 = 225*	Monoinfections : 179	152	6	15	2	1	2	1		27 (11,8%)
	Infections mixtes : 19	19	7	6	3	3	5	1		
2016 = 348	<b>Monoinfections : 267</b>	<b>254</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>58 (16,9%)</b>
	<b>Infections mixtes : 23</b>	<b>19</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	

\* : Quatre épidémies n'ont pas été comptabilisées. Les prélèvements reçus étaient non conformes et non analysés.

**Tableau 2 : Prélèvements analysés en 2016 : 758 ; soit par épidémie moy. : 3,2 +/- 1,8 ; médiane : 2.**

- **Épidémies positives (290) :**

- prélèvements reçus : 1034 ; soit par épidémie : moyenne : 3,6 +/- 1,9 ; médiane : 3.

- prélèvements positifs : 791 ; moyenne : 276 / épidémie +/- 1,5 ; médiane : 2.

- **Épidémies négatives (58) :**

- o prélèvements reçus : 102 : en moyenne : 1,8 +/- 0,9 par épidémie et médiane : 1/épidémie.

	Nombre de prélèvements analysés																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13	15	21	23	24	27	Total
Nombre de prélèvements positifs	0	34	10	10	3		1											58
	1	50	15	11	5													81
	2		47	42	7	2	1							1				100
	3			26	17	3	1	1				1			1			50
	4				16	6	4	1		1	1							29
	5					9	7	1										17
	6							2										2
	7							1	1					1				3
	8								2									2
	9											1						1
	11											1						1
	20															1		1
	21															1		1
	23														1			1
	25																1	1
Total	84	72	89	48	20	14	6	3	1	1	3	1	1	1	1	2	1	348

**Tableau 3** : Nombre de prélèvements positifs en fonction du nombre de prélèvements reçus. Pour 137 des 290 épidémies positives, le nombre de prélèvements positifs correspondait exactement au nombre de prélèvements reçus au laboratoire du CNR. Cette proportion un peu plus faible à celle observée les années précédentes : 47,2% contre 52,5% (2015), 58,5% (2014), 60,9% (2013) et 49,5% (2012) et 55,5% pour l'ensemble de la période 2012-2016.

### 2.2.1.2. Principales souches virales caractérisées.

#### ○ Norovirus (tableau 4):

- 2012 – 2016 : Nous avons caractérisé 1206 souches de norovirus dans 1100 épidémies positives ( $\geq 1$  norovirus). Les norovirus du génogroupe II (GGII) représentent 87,8% des norovirus caractérisés durant cette période et sont toujours largement majoritaires. Entre 2012 et 2015 le génotype GII.4 est largement majoritaire avec le variant 2012 (ou Sydney) apparu durant la saison hivernale 2012-2013.
- **2016** : **297 souches de norovirus pour 273 épidémies  $\geq 1$  norovirus. GG II : 92,6%**
  - **Place des génotypes GII.4 dans les épidémies en 2016, le variant GII.4 2012 ne représente que 12,5% des souches de norovirus**, soit le 2<sup>ème</sup> génotype des norovirus responsables des épidémies, après le génotype GII.17. A la fin de 2016 est apparu un nouveau recombinaut lié – entre autre - à la capsid du génotype GII.4, le recombinaut **GII.16/GII.4 2012** (autre recombinaut proche et apparu fin 2016 : **GII.16/GII.2**)
  - **Le génotype GII.17**. Ce génotype avait été détecté ponctuellement en 2013, 2014. Mais c'est un génotype GII.17 légèrement différents qui a émergé en 2015. Son émergence en France et en Europe cette saison en a fait le **génotype majeur de l'année 2016** (Tableau 4, voir également chapitre activité de surveillance – surveillance des cas groupés de gastro-entérites).
  - Les autres génotypes, GII.6, GII.7/II.6 et GII.7 sont très proches et peuvent être relativement fréquents selon les saisons. Ce fut le cas en 2012 (environ 10% des souches de norovirus caractérisées) et en 2014 (13,4%) mais ils furent rares en 2016.

#### ○ Autres virus détectés en 2016 :

- **rotavirus** : **17 souches** retrouvées dans 15 épidémies. Le principal génotypes retrouvé était **G9P[8]** suivi du génotype G1P[8].
- **sapovirus** **5 souches** de **génogroupe GI.2**

- **adénovirus : 16 souches**: principalement de types 1, 2 et 3 (respectivement 2, 5 et 2 souches) et type 40/41 (3 souches).
- **astrovirus** : 6 souches principalement de type 1 (3 souches)
- **Aichi virus** : 2 souches de type B retrouvées dans 2 épidémies l'une **d'origine alimentaire (huîtres)** et l'autre **d'origine hydrique (eau de distribution)**

Norovirus	2012			2013			2014			2015			2016		
	GI	GII	%	GI	GII	%									
GI non typable	9		3,5%	5		1,9%	14		7,2%	4		2,1%	1		0,3%
GI.1							1		0,5%				5		1,7%
GI.2							6		3,1%	5		2,6%	2		0,7%
GI.3	7		2,7%	9		3,4%	8		4,1%	8		4,1%	5		1,7%
GI.4	5		1,9%	4		1,5%	2		1,0%	2		1,0%	4		1,3%
GI.5										3		1,6%	4		1,3%
GI.6	9		3,4%	10		3,8%	2		1,0%	5		2,6%	1		0,3%
GI.7	3		1,2%												
GI.8				1		0,4%	1		0,5%						
GI.9				2		0,8%									
GII non typable		8	3,1%		10	3,9%		10	5,2%		5	2,6%		14	4,7%
GII.1		10	3,9%		3	1,2%		8	4,1%		17	8,9%		3	1,0%
GII.2		2	0,8%		6	2,3%		8	4,1%		16	8,2%		9	3,0%
<b>GII.16/GII.2</b>														<b>9</b>	<b>3,0%</b>
GII.3		3	1,2%					2	1,0%					5	1,7%
GII.21/II.3		1	0,4%		3	1,1%		2	1,0%		2	1,0%		1	0,3%
<b>GII.4 1987</b>														1	0,3%
<b>GII.4 2009</b>		<b>91</b>	<b>35,0%</b>		3	1,1%		4	2,1%						
<b>GII.4 2009/2012</b>					<b>32</b>	<b>12,2%</b>		<b>25</b>	<b>12,9%</b>		<b>47</b>	<b>24,4%</b>		<b>31</b>	<b>10,4%</b>
<b>GII.4 2012</b>		<b>88</b>	<b>33,8%</b>		<b>152</b>	<b>58,0%</b>		<b>70</b>	<b>36,1%</b>		<b>47</b>	<b>24,4%</b>		<b>37</b>	<b>12,5%</b>
<b>GII.e/2012</b>											<b>2</b>	<b>1,0%</b>		<b>4</b>	<b>1,3%</b>
<b>GII.16/GII.4 2012</b>														<b>14</b>	<b>4,7%</b>
GII.5					1	0,4%									
GII.22/II.5					1	0,4%									
<b>GII.6</b>		<b>9</b>	<b>3,5%</b>		12	4,6%		<b>26</b>	<b>13,4%</b>		3	1,6%		5	1,7%
<b>GII.7/II.6</b>		<b>6</b>	<b>2,3%</b>		1	0,4%		1	0,5%						
<b>GII.7</b>		<b>8</b>	<b>3,1%</b>		2	0,8%								1	0,3%
GII.8					1	0,4%									
GII.12											1	0,5%			
GII.13		1	0,4%								1	0,5%		1	0,3%
GII.21/II.13											1	0,5%		1	0,3%
GII.14					3	1,1%					1	0,5%		1	0,3%
GII.16														1	0,3%
<b>GII.17</b>					1	0,4%		3	1,5%		<b>22</b>	<b>11,4%</b>		<b>133</b>	<b>44,8%</b>
GII.21								1	0,5%					1	0,3%
GII.22														2	0,7%
GIV.1											1	0,5%			
<b>total</b>	<b>33</b> (13%)	<b>227</b> (87%)		<b>31</b> (12%)	<b>231</b> (88%)		<b>34</b> (18%)	<b>160</b> (82%)		<b>27</b> (14%)	<b>166</b> (86%)		<b>22</b> (7,4%)	<b>275</b> (92,6%)	

**Tableau 4** : Souches de norovirus caractérisées entre 2012 et 2016. On constate la prédominance des norovirus de génogroupe II, principalement les variants du génotype GII.4 (2009 puis 2012). La nomenclature GII.4 2009/2012 indique une discordance entre le type de la polymérase (de type 2009 dans ce cas) et la capsid de type 2012. Cette même nomenclature est utilisée pour d'autres génotypes, par exemple : GII.7/II.6. Les lettres en minuscule b, c, e, f, g, indique une polymérase non classée ou en attente de classification. La nomenclature GII.16/GII.2 ou GII.16/GII.4 2012 indique un recombinant polymérase/capsid.

### 2.2.1.3. Conclusions sur les virus entériques caractérisés.

- Les norovirus représentent la majorité des virus isolés à partir des selles analysées dans le cadre d'une investigation de cas groupés de gastro-entérites.
- Il s'agit essentiellement du génogroupe II.
- Les variants du génotype GII.4 étaient prédominants et se succédaient selon un cycle de 2 à 3 années. En 2016, le variant GII.4 2012 reste important avec presque 30% des souches de norovirus caractérisées, mais il arrive en seconde position derrière le génotype GII.17.
- L'hiver 2015 - 2016 a été marqué par l'apparition du norovirus GII.17. Ce génotype représentait presque 45% des souches de norovirus caractérisées.
- L'hiver 2016 - 2017 marquée par le retour du génotype GII.4 avec l'apparition d'un **nouveau recombinant GII.16-GII.4 2012**.

### 2.2.2. Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal

- Nous participons depuis 2014 à un programme de recherche sur le traitement de maladie inflammatoire chronique intestinale par transplantation de microbiote fécal. **Notre expérience a été mise à disposition des autres laboratoires afin de favoriser l'accès à cette nouvelle thérapeutique.**

### 2.2.3. Investigations virologiques de cas sporadiques.

#### 2.2.3.1. Entérocolites ulcéro-nécrosantes

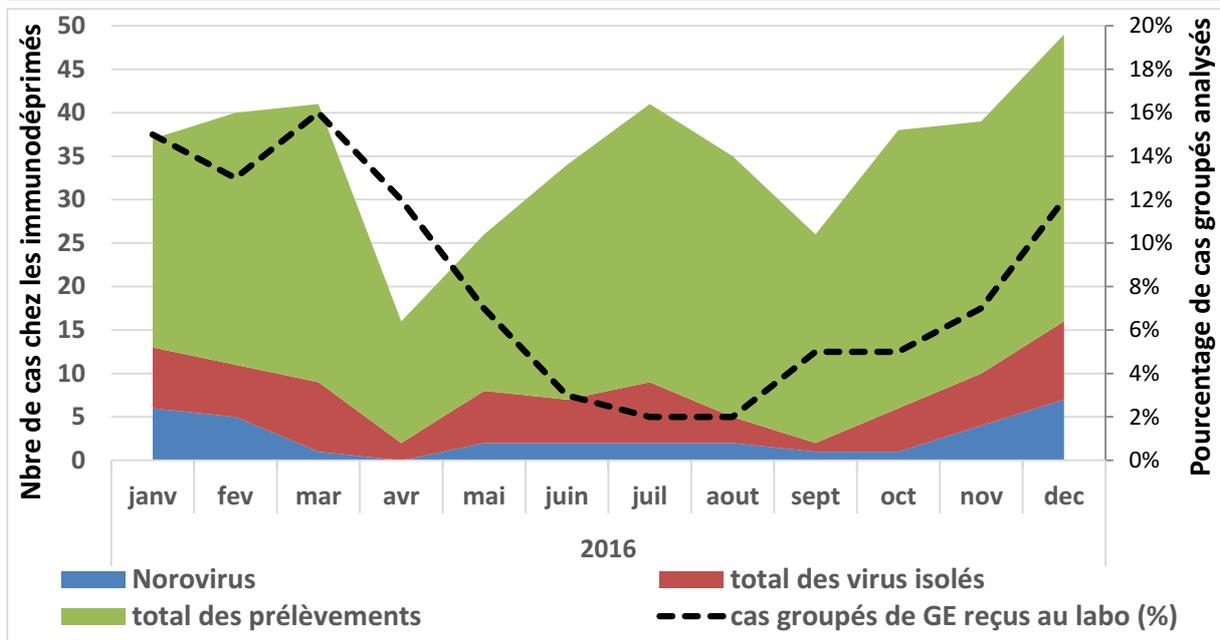
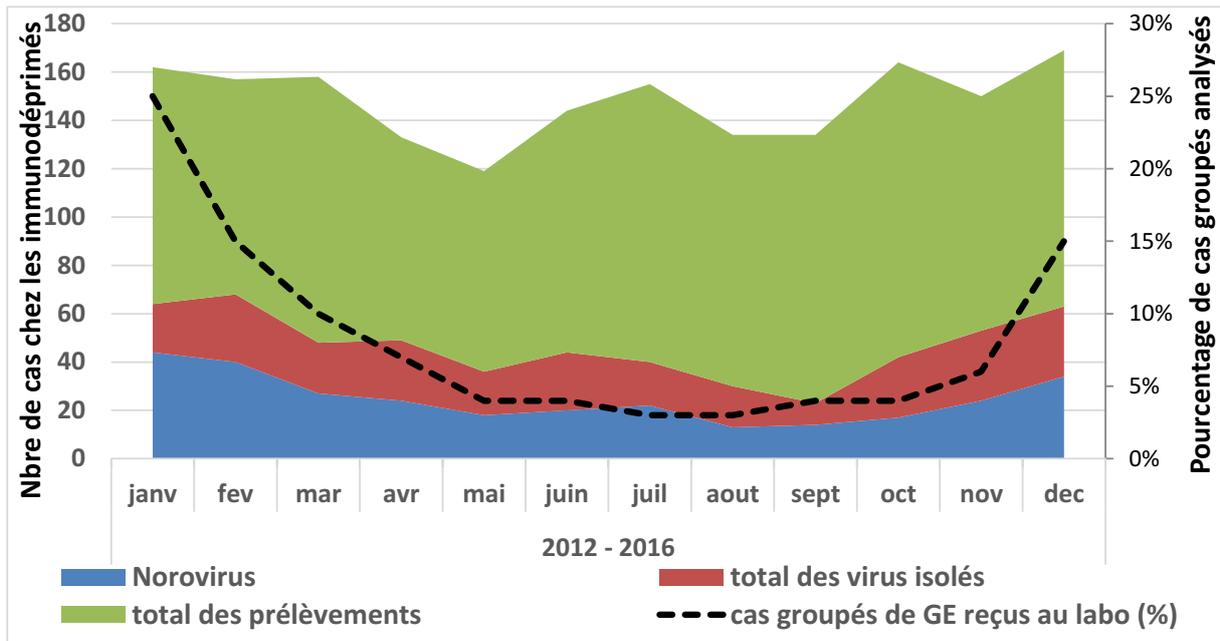
Entre 2016, nous avons exploré 4 « épidémies » d'entérocolites ulcéro-nécrosantes :

- Deux épidémies sans étiologie virale.
- Une positive : adénovirus 3 associé à un Paréchovirus (2 nouveau-nés sur 9 analysés),
- Une positive : entérovirus + Parechovirus (3 nouveau-nés sur 15 analysés).

#### 2.2.3.2. Surveillance de patients immunodéprimés

**Année 2016** : nous avons reçu **324 selles représentant le suivi de 265 patients**. Nous n'avons reçu qu'un seul prélèvement pour 221 patients et 2 à 6 prélèvements pour 44 patients. Les **selles de 62 patients (23,4%) étaient positives pour un virus (56 patients) ou plusieurs virus (8 patients)**.

- **Norovirus positif chez 30 patients. Principalement les variants du génotype GII.4 (14 souches) et seulement 2 génotypes GII.17. A la différence de la population générale nous n'avons pas constaté l'émergence du nouveau génotype GII.17 durant l'année 2016.**
- Sapovirus : 8 positifs.
- Adénovirus : 14 positifs. Principaux types : 1 (2), 2 (3) et 41 (2) et groupe D (3).
- Rotavirus : 6 positifs.
- Aichi virus : 4 positifs (3 type A et 1 type B).
- Astrovirus : 1 positif.
- CMV : 1 positif.
- Entérovirus : 4 positifs.



Figures 1a et 1b : **a** : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des 1779 patients immunodéprimés suivis (1 prélèvement/patient) entre janvier 2012 et décembre 2016.  
**b** : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des 265 patients immunodéprimés suivis (1 prélèvement/patient) entre janvier 2016 et décembre 2016.  
 Pour comparaison, la répartition (%) des cas groupés de gastro-entérites investigués au CNR (courbe pointillée noire) durant la période 2012-2016 (a) ou l'année 2016 (b)

### 3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

#### 3.1. Surveillance épidémiologique des gastro-entérites 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 2).

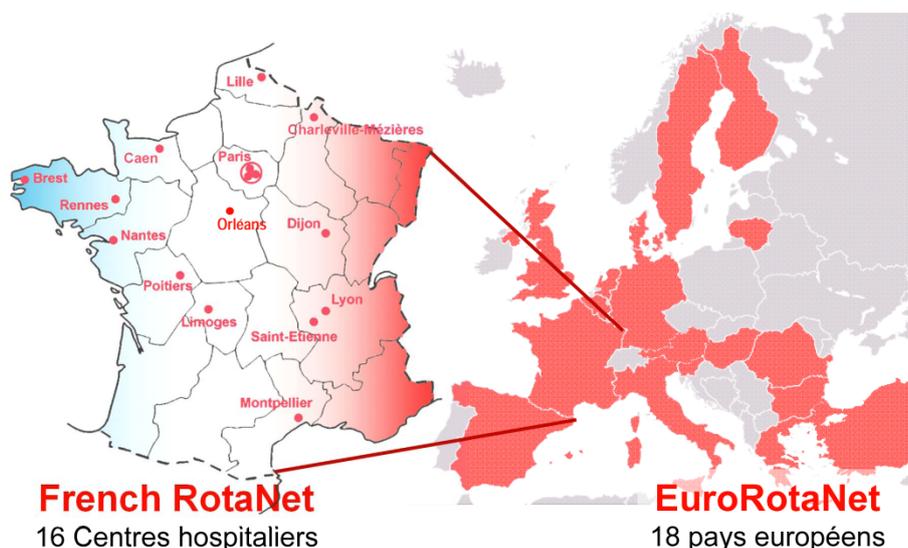


Figure 2 : Répartition des centres participant à l'étude rotavirus en milieu pédiatrique

##### 3.1.2. Bilan de la surveillance de la saison 2016-2016

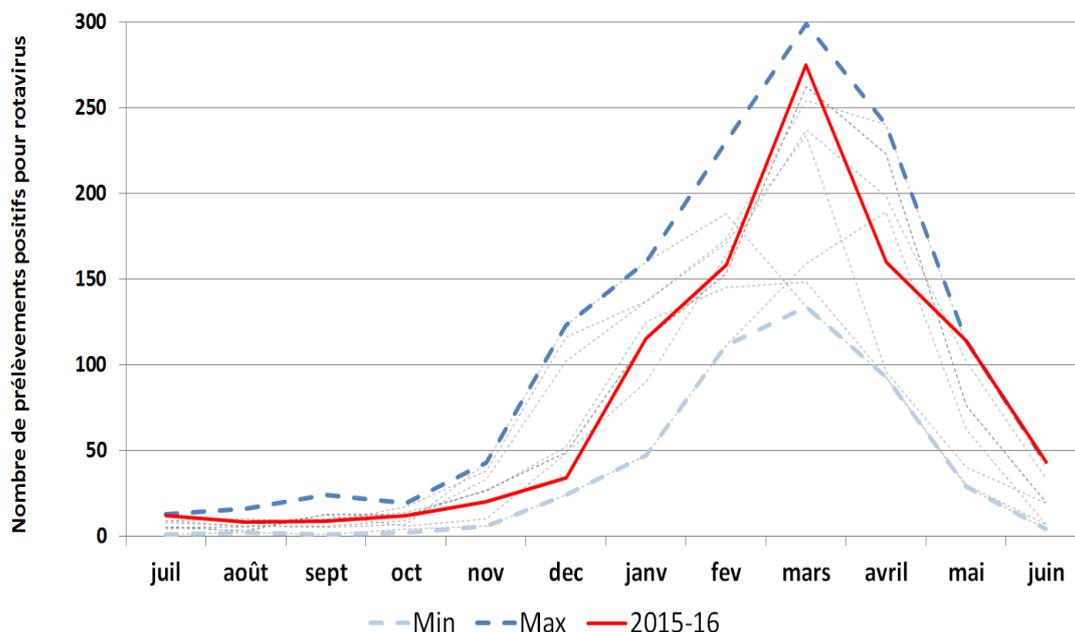
Seize centres participent à cette étude depuis 2006 et **13 centres ont envoyé des prélèvements durant la saison 2015-2016**. Tous les prélèvements parvenus ont été analysés. Au total, nous avons reçu et analysé **852 prélèvements durant la saison 2015-2016 (soit 8871 souches de rotavirus « génotypées » entre 2006 et 2016)**

###### 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 2015-2016 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 2016 (figure 3).

Globalement il y a peu de différence d'une année à l'autre puisque le pic des infections a lieu en mars 8 saisons sur 10 de 2008 à 2016, les autres ayant eu lieu en février pour la saison

2007-08 et en avril pour 2006-07. Les mois les plus importants sont février à avril pour 7 saisons (2006-07, 2009-10 et de 2011 à 2016) et janvier à mars pour les 3 autres (2007-08, 2008-09 et 2010-11).



**Figure 3 :** Distribution temporelle des infections à rotavirus pour la saison 2015-16 comparée aux maximums et minimums des saisons de 2006 à 2016.

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

- **Résultats obtenus en France (figures 4) :**

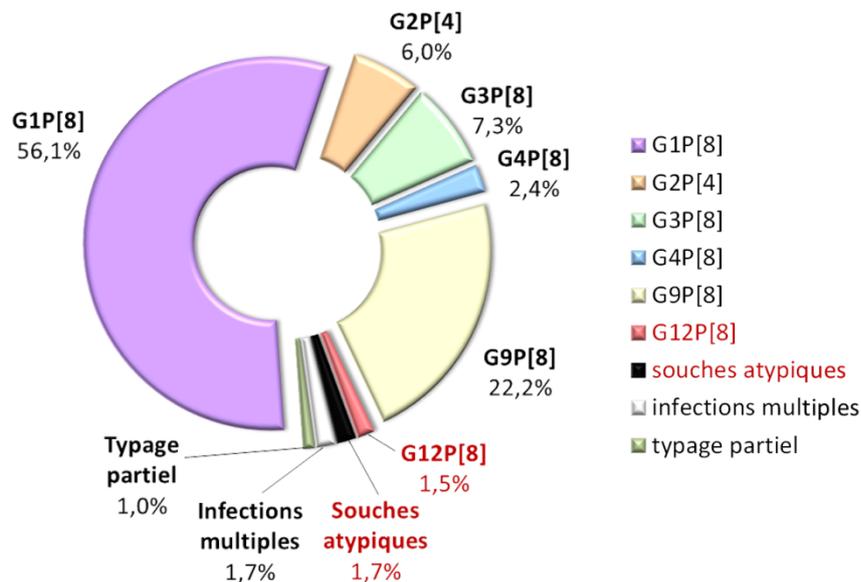
**Bilan 2006-2016 :** Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2013-2014 est de **8871 souches de rotavirus** totalement ou partiellement caractérisées (figure 6a et tableau 4). Les six principales combinaisons de génotypes G/P (>1%) ont été durant ces neuf années : **G9P[8] (66,0%)** suivie de **G1P[8] (16,8%)**, cumulant à elles seules **82,8% des souches détectées**, puis **G3P[8] (6,4%)** et **G2P[4] (3,8%)**. Les autres combinaisons d'importance significative étaient **G4P[8] (2,0%)** et **G12P[8] (2,6%)**. Ainsi, les quatre combinaisons génotypiques classiques (G1P[8], G2P[4], G3P[8] et G4P[8]) représentaient seulement 29,0% des souches « génotypées ». Le génotype **G9P[8] représente le premier génotype** en terme de fréquence (66,0%), ce qui n'avait pas été observé depuis sa première émergence au cours de la saison 2004-05 (figure 8).

Les **génotypes ou combinaisons atypiques** (incluant notamment quelques associations de génotypes G et P classiques) représentent **0,4 %** et les infections mixtes **0,6%**.

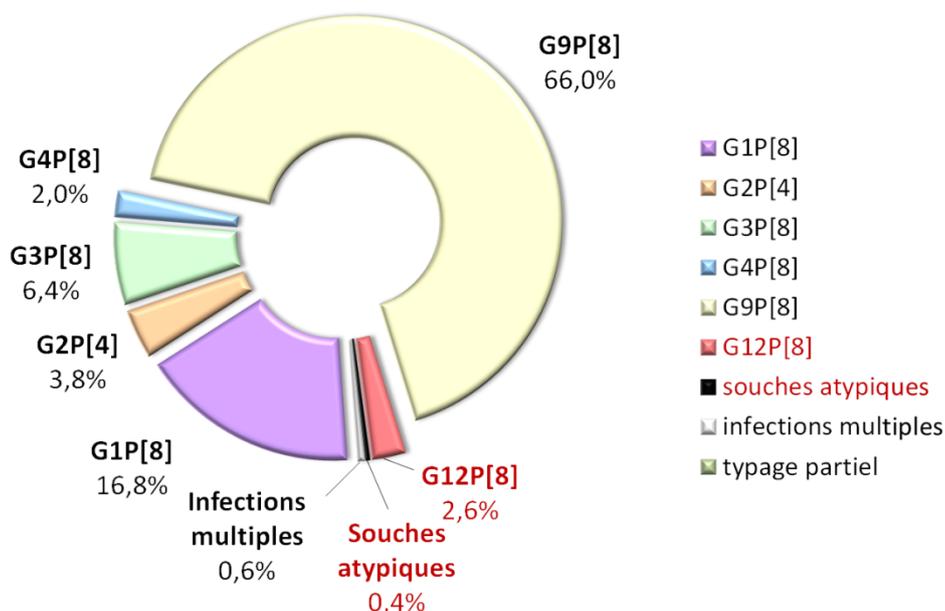
**Saison 2015-2016** (figure 4b et tableau 4):

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

- 1) Le génotype G9P[8] a ré-émergé avec une forte fréquence de détection (66,0%).
- 2) Les autres génotypes importants sont :
  - a. G1P[8] (16,8%), ce génotype demeure néanmoins le premier génotype toutes saisons confondues
  - b. G3P[8] retrouve son niveau moyen en terme de fréquence (6,4% vs 7,3% sur la période 2006-2016).
- 3) G12P[8] reste présent mais stable depuis son émergence avec une fréquence de 2,6%.



**Figure 4a :** Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant l'ensemble de la surveillance 2006-2016 (8859 souches).



**Figure 4b :** Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant la saison 2015-2016 (840 souches).

La persistance d'un certain nombre de souches non typables (1,4%) est liée à l'amélioration de nos méthodes de détection et ne reflète pas l'émergence de souches atypiques. La détection par PCR en temps réel, plus sensible, entraîne en effet une augmentation des prélèvements diagnostiqués positifs sans que l'on puisse caractériser plus en détail le rotavirus détecté par les techniques conventionnelles de biologie moléculaire car les charges virales sont généralement très faibles.

- **Les résultats obtenus en Europe, 2006-2012 (figure 5)**

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]** a été moins fréquent en France, 3,0% contre 15,4%. En revanche, 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 (figures 11).

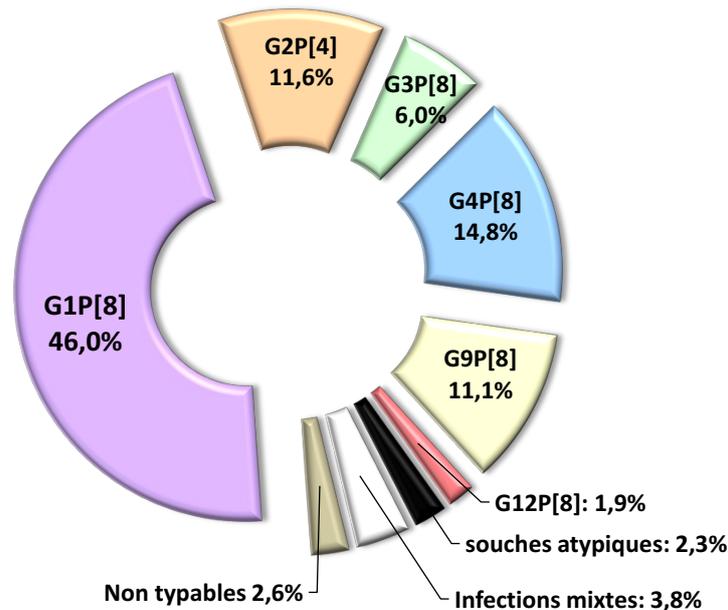


Figure 6 : Distribution des combinaisons génotypiques des rotavirus détectés en Europe durant l'ensemble de la surveillance 2006-2012.

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

L'analyse séparée des **génotypes G** (tableau 7 et figure 7a et 7b) montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France en 2015-2016 ont été **G6** (0,1%) et **G10** (0,1%). Aucun génotype G5 ou G8 n'a été caractérisé durant la saison 2015-2016.

Le fait marquant de cette saison 2015-2016 est la **fréquence élevée des rotavirus de génotype G9** (560 prélèvements (65,3%)). Le **génotype G12** (22 prélèvements (2,6%)) semble désormais bien implanté et circule régulièrement en France depuis son émergence, après une saison 2013-14 plutôt « creuse » (7 prélèvements (0,6%)). Cette émergence du génotype **G12P[8]** a été 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 avec une fréquence >60% dans la Pays Basque (figure 11b).

**Tableau 5 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2016 et durant la saison 2015-2016.**

	Nombre de souches de rotavirus génotypées		
	2006-2015 n=7751	2015-2016 n=858	2006-2016 n=8609
<b>G genotypes<sup>a</sup></b>			
G1	4788 (61,8)	142 (16,6)	4930 (57,3)
G2	562 (7,3)	32 (3,7)	594 (6,9)
G3	673 (8,7)	55 (6,4)	728 (9,0)
G4	205 (2,6)	17 (2,0)	222 (2,6)
G6	16 (0,2)	1 (0,1)	17 (0,2)
G8	16 (0,2)		16 (0,2)
G9	1473 (19,0)	560 (65,3)	2033 (23,6)
G10	1 (<0,1)	1 (0,1)	1 (<0,1)
G12	116 (1,5)	22 (2,6)	138 (1,6)
<b>G type mixed infections</b>			
G1 + G2	18 (0,2)		18 (0,2)
G1 + G3	21 (0,3)	1 (<0,1)	22 (0,3)
G1 + G4	8 (0,1)		8 (0,1)
G1 + G9	52 (0,7)	8 (<0,1)	60 (0,7)
G2 + G3	1 (<0,1)		1 (<0,1)
G2 + G4	1 (<0,1)		1 (<0,1)
G2 + G9	3 (<0,1)	1 (<0,1)	4 (<0,1)
G3 + G4	2 (<0,1)		2 (<0,1)
G3 + G9	20 (0,3)	1 (<0,1)	21 (0,3)
G4 + G9	3 (<0,1)	1 (<0,1)	4 (<0,1)
<b>P genotypes<sup>a</sup></b>			
P[3]	3 (<0,1)		3 (<0,1)
P[4]	569 (7,3)	35 (4,1)	604 (7,0)
P[5]		1 (0,1)	1 (<0,1)
P[6]	46 (0,6)	3 (0,4)	49 (0,6)
P[8]	7131 (92,0)	805 (95,3)	7936 (92,2)
P[9]	6 (0,1)		6 (<0,1)
P[14]	8 (0,1)	1 (0,1)	9 (<0,1)
<b>P type mixed infections</b>			
P[4] + P[8]	33 (0,4)		33 (0,4)

<sup>a</sup> Inclus les infections multiples

Les **génotypes P** (tableau 4 et figures 8a et 8b) sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** (globalement 92,2% et 95,3% en 2015-2016), alors que le génotype **P[4]** représente globalement 7,0% et 4,1% 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 2016, les génotypes atypiques en France étaient représentés par **P[3], P[5], P[6], P[9] et P[14]** : 70 souches soit 0,8% des 8609 souches. Durant la saison 2015-2016 nous avons détecté les **génotypes P[6] (3 souches), P[5] et P[14] (1 souche chacun) soit 0,6% des souches.**

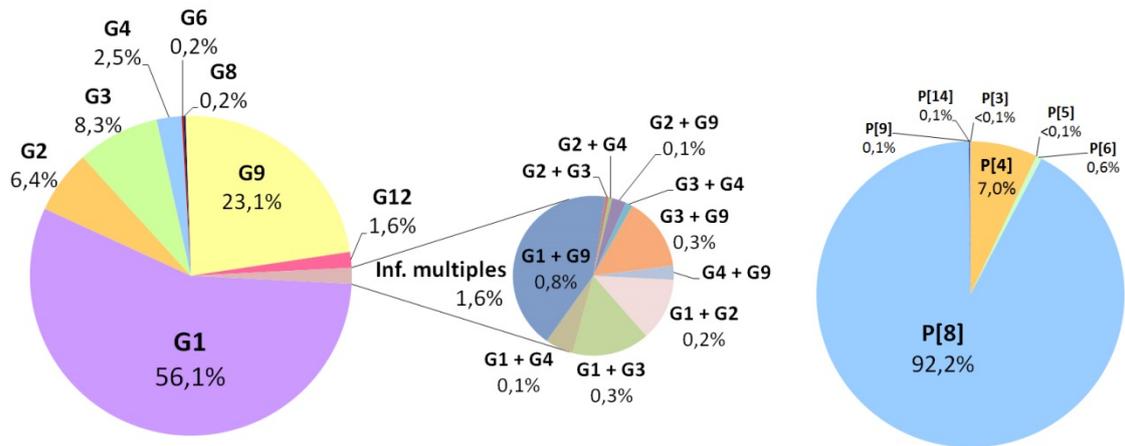


Figure 7a : Distribution des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2016.

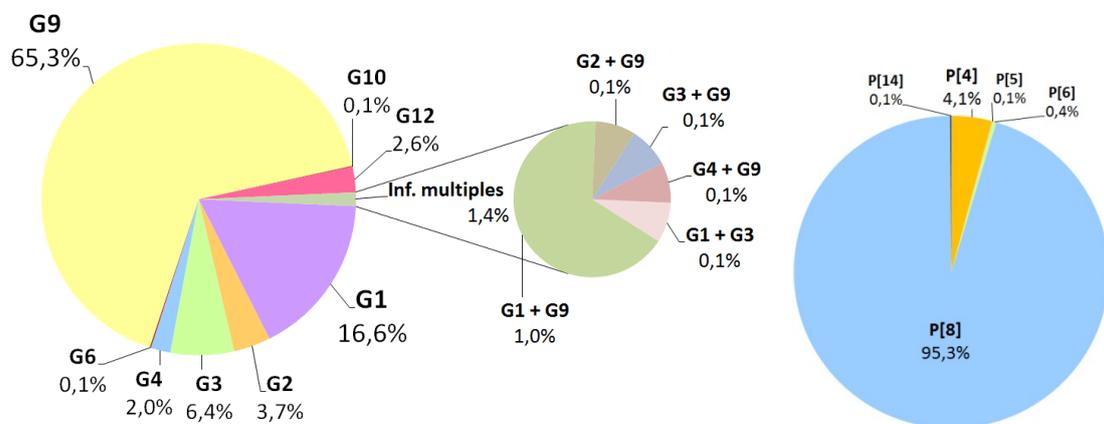


Figure 7b: Distribution des génotypes G et P détectés en France durant la saison 2015-2016

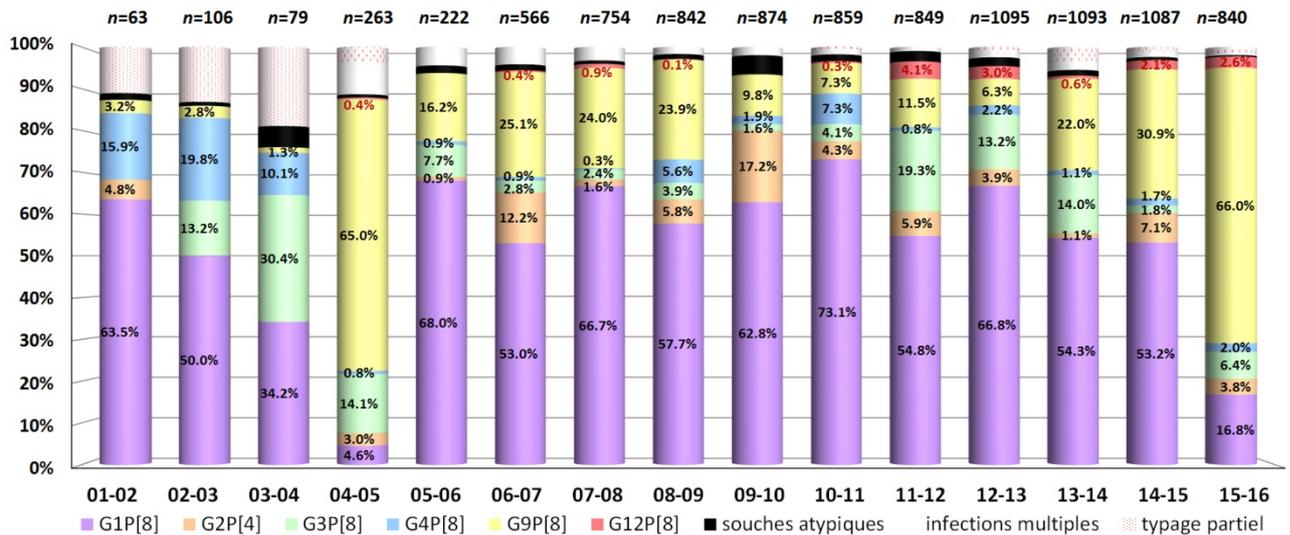
**La constance de la prévalence du génotype P[8] entre 2006 et 2016** est rassurante et doit être soulignée s'agissant de l'efficacité de la vaccination puisque les deux vaccins commercialisés possèdent cette valence antigénique dans leur composition.

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

#### 3.1.2.4.1. Variations des génotypes G/P entre 2006-2016 (figure 9) :

- **Évolution des génotypes G/P « classiques »** : l'évolution des génotypes G/P durant cette période de surveillance est marquée par :
  1. **La prédominance du génotype G9P[8]** : après sa brutale émergence en 2004-2005 (65,0%), sa fréquence diminuait régulièrement de 25,1% à 6,3% en 2012-2013. Sa réapparition à un taux élevé au cours des 2 précédentes saison (21,1% en 2013-2014 puis 30,9% en 2014-15) puis sa réémergence au cours de la saison 2015-16 (66,0%) soulève des questions quant à sa circulation et 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 sur tout le continent.
  2. Le **génotype G1P[8]** stable depuis 10 ans a vu sa fréquence chutée avec la réémergence des G9P[8] (entre 53,0% et 73,1% ; 16,8% en 2015-2016). Phénomène a déjà observé en 2004-2005.

3. **Génotype G12P[8] : son émergence récente (4,2% en 2011-12 et 3,0% en 2012-2013)** laissait penser qu'il deviendrait l'un des six génotypes importants en France. Après une saison 2013-2014 creuse (7 souches ; 0,6%), ce génotype a été détecté à une fréquence de 2,1% (23 souches ; 2,1%) en 2014-2015 puis 2,6% en 2015-2016, confirmant la persistance de la circulation des rotavirus G12 en France.
4. Les autres génotypes **G2P[4], G3P[8] et G4P[8]** évoluent de façon cyclique selon les saisons : G2P[4] (entre 1,6% et 17,2%) ; G3P[8] (entre 1,6% et 19,3%) ; 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 8** : Évolution des combinaisons de génotypes G/P de rotavirus en France entre 2001 et 2016. La période 2001 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.

○ **Génotypes ou combinaisons atypiques :**

1. en dehors du génotype G12P[8], décrit précédemment dans les souches dites « classiques », **les génotypes atypiques** sont des combinaisons associant l'un des génotypes **G6, G8, G10, P[3], P[5], P[6], P[9] et P[14]**. **Sur l'ensemble de l'étude elles représentent 70 souches (0,8%) dont 5 (0,6%) en 2015-2016.** Parmi ces génotypes inhabituels, le génotype P[6] est le plus important (49 souches au total dont 3 en 2015-2016). Certaines de ces souches peuvent être d'origine animale.
2. **les combinaisons atypiques**, par exemple G2 associé à P[8] ou G1, G3, G4, G9 ou G12 associé à P[4] représentent 0,9% des souches détectées de 2006 à 2016 et 0,3% sur la dernière saison (3 souches G9P[4] durant la saison 2015-2016).

**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 9)**. Nous retrouvons lors de cette saison 2015-2016 cette même variabilité géographique mais moins marquée. Elle concerne tous les génotypes, notamment le génotype G9P[8] responsable de 44.3% à 79.1% des cas dans des centres géographiquement éloignés. Le génotype G2P[4] est très variables voire absent d'un centre à l'autre, sa fréquence allant de 0% (Saint-Etienne, Poitiers, Charleville) à 13,6% à Dijon.

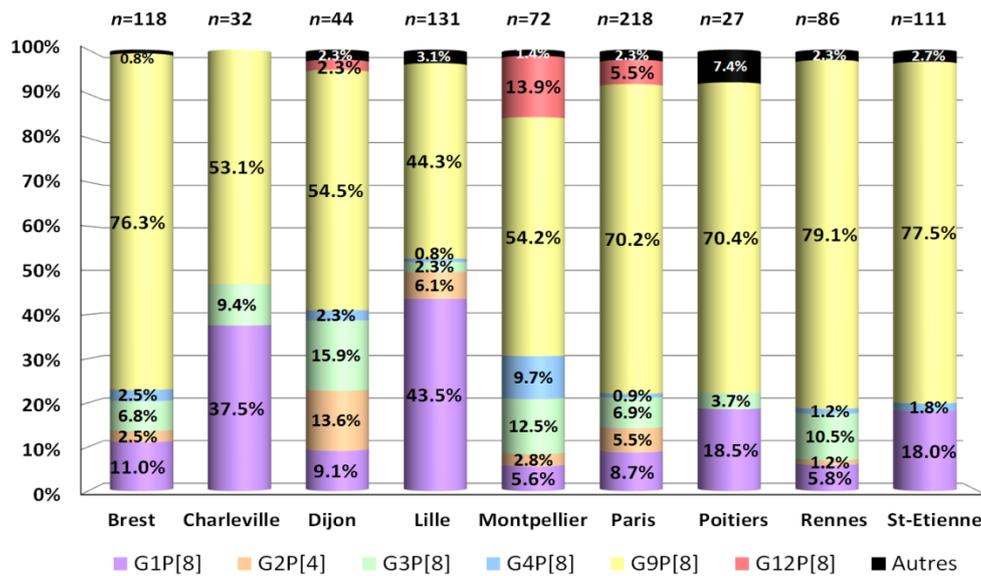


Figure 9 : Distribution des génotypes en France selon les centres durant la saison 2015-2016.

Pour le génotype G12P[8], quelques souches ont été détectées dans 3 centres (Dijon, Montpellier et Paris). La figure 10 montre que globalement le génotype G12P[8] circule dans tous les centres du réseau depuis son émergence.

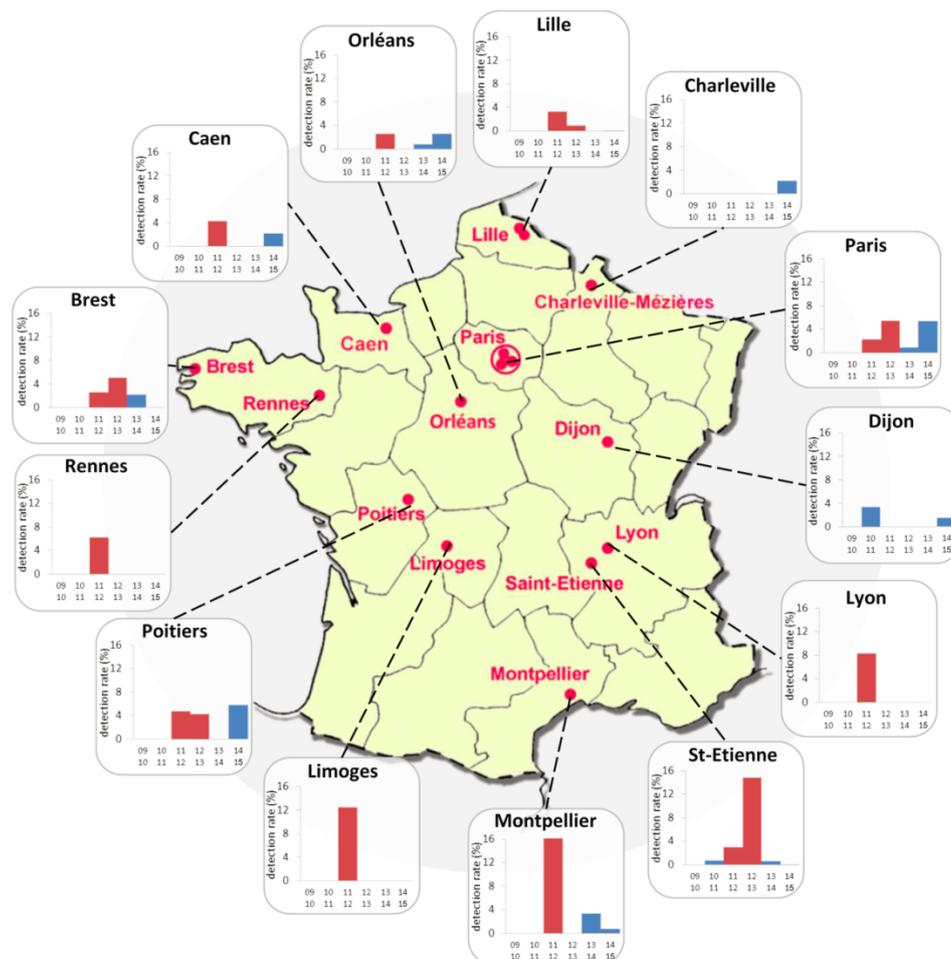
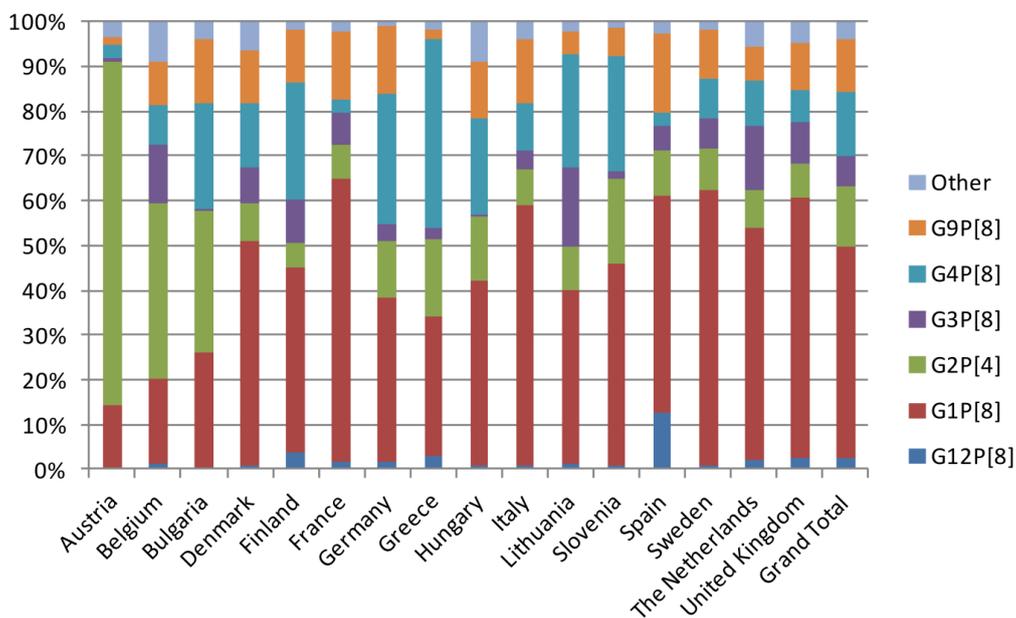
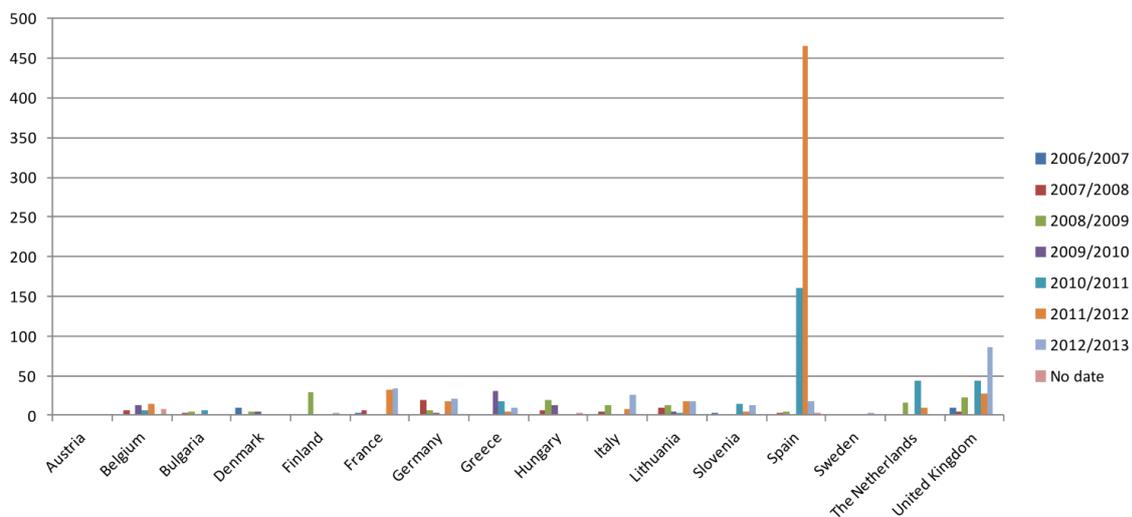


Figure 10 : Fréquences de détection du génotype G12P[8] en France selon les centres de 2009 à 2015 (en rouge : saisons d'émergence ; en bleu : saisons avant et après émergence)

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 des saisons 2004-2005 et 2015-2016.
  - **l'émergence de nouveaux génotypes** :
    - **le génotype G9** est devenu, depuis la saison 2004-2005, un génotype « classique » avec G1, G2, G3 et G4. Il a ré-émergé au cours de la saison 2015-2016 avec une forte prévalence (66,0%).
    - **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 mais globalement stable sur les 5 dernières saisons en France.
  - 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 **grande variabilité géographique**. Variabilité selon les centres en France et quelle que soit la saison. Cette variabilité est également retrouvée au niveau des pays européens.

## 3.2. Surveillance des cas groupés de gastro-entérites

### 3.2.1. Réseau de partenaires et répartition géographique

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

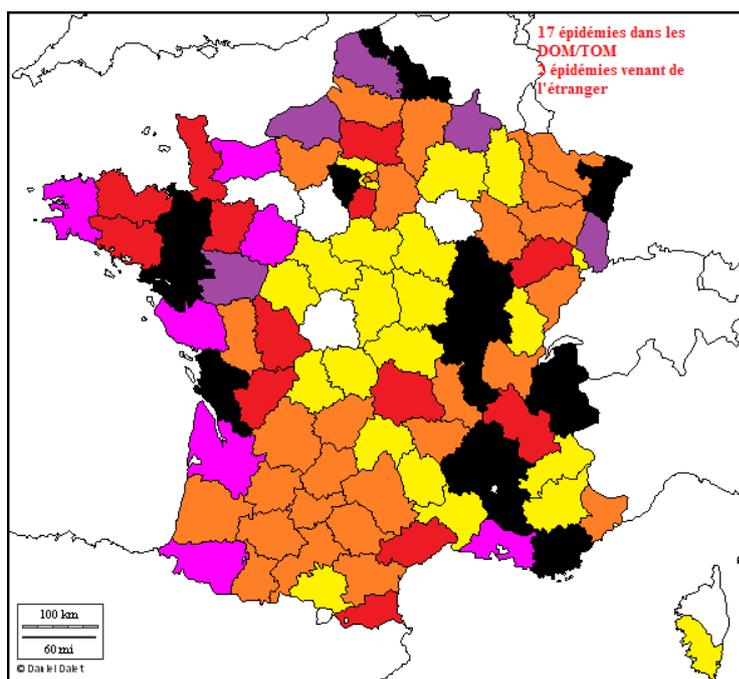
Les **Délégations territoriales des ARS** ou les **CIRE** notifient les épidémies et déclenchent l'alerte et l'investigation virologique. Plus rarement, l'alerte nous est donnée par un service hospitalier, le **CLIN** ou le service d'hygiène d'un établissement de soins.

Toutes les données nous parvenant sont immédiatement transmises à **SPF** pour la coordination des investigations épidémiologiques et virologiques. **SPF et les CIRE** réalisent les investigations épidémiologiques. **Un point hebdomadaire téléphonique avec SPF** 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).

- **Réseau Sentinelle** : Notre interlocuteur est le Dr Mathieu RIVIERE.
- **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

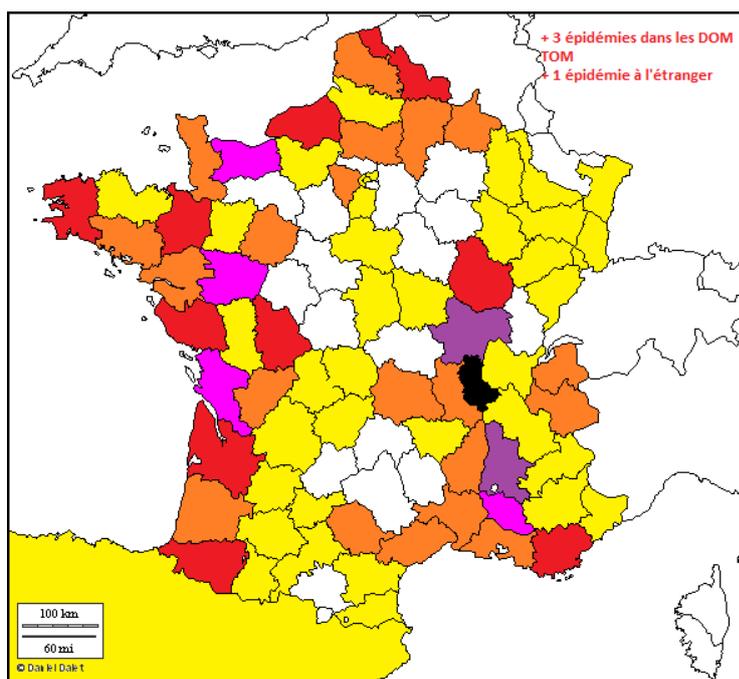


Répartition géographique des épidémies reçues au CNR des virus entériques :

Répartition géographique des épidémies reçues de 2012 à 2016

CODE COULEUR :

- aucune épidémie
- 1 à 6 épidémies
- 7 à 12 épidémies
- 13 à 18 épidémies
- 19 à 24 épidémies
- 25 à 31 épidémies
- + de 32 épidémies



Répartition géographique des épidémies reçues au CNR des virus entériques :

Répartition géographique des épidémies reçues au CNR en 2016

CODE COULEUR :

- aucune épidémie
- 1 à 3 épidémies
- 4 à 6 épidémies
- 7 à 9 épidémies
- 10 à 12 épidémies
- 13 à 15 épidémies
- + de 15 épidémies

Figure 12 : Répartition géographique des épidémies reçues durant les années 2012 à 2016 et plus spécifiquement celles reçues en 2016. La plupart des départements nous ont envoyé des prélèvements au moins une fois durant les cinq années.

### 3.2.3. Caractéristiques des épidémies (2012 – 2016)

#### 3.2.3.1. Saisonnalité des épidémies

- **Saisonnalité selon le site et le mode de transmission (fig 13) :** La saisonnalité hivernale est très marquée pour les épidémies survenant en EHPAD et hôpitaux, au contraire de celles survenant dans les centres pour adultes ou lors de réceptions. On retrouve cette même différence si l'on compare les épidémies transmises de personne-à-personne (hivernales) de celle transmises par les aliments ou l'eau (toute l'année).

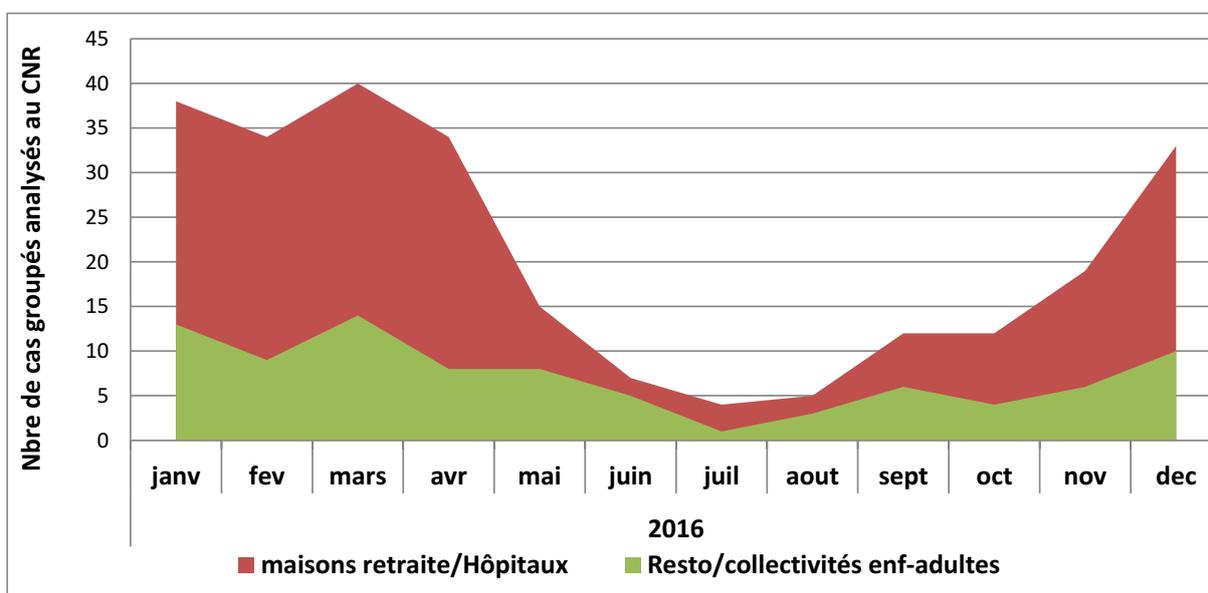
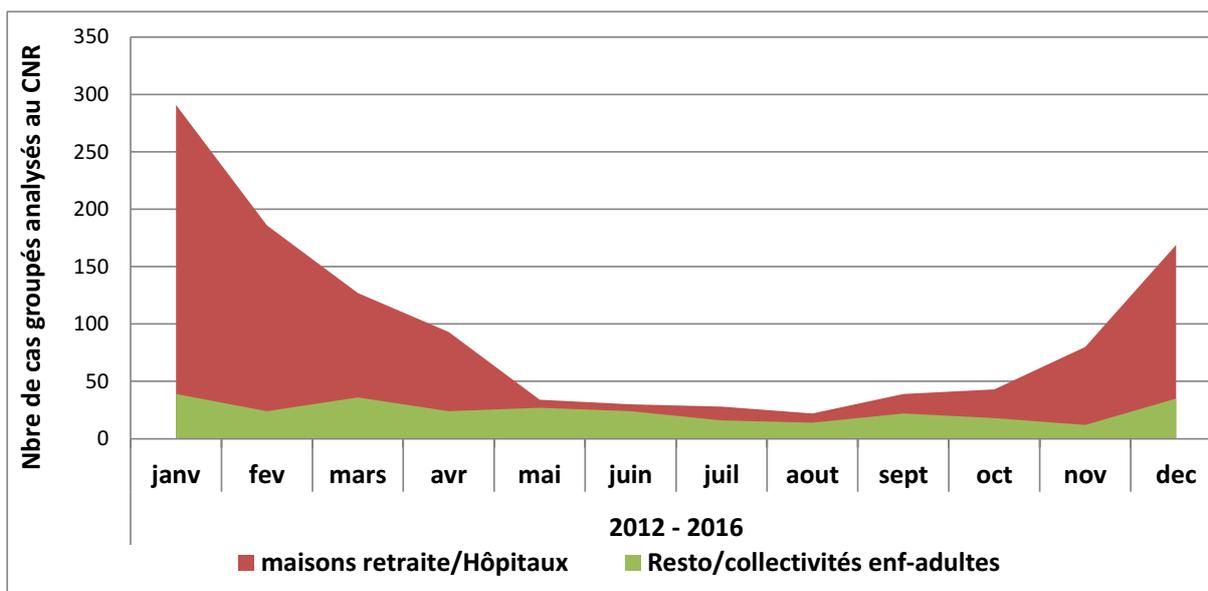


Figure 13 : Environ 70% des épidémies analysées au CNR (2012-2016) sont survenues entre **novembre et mars**. Cette forte saisonnalité hivernale concerne les épidémies survenant en établissements de soins (75%), mais pas celles survenant en collectivités ou dans les restaurants (50%). Cette différence de saisonnalité des épidémies entre maisons de soins et collectivités est moins marquée pour l'année **2016** (respectivement **65%** et **60%**). On obtient les mêmes différences de saisonnalité si l'on compare les épidémies transmises de personne à personne à celles d'origine alimentaire ou hydriques.

### 3.2.3.2. Sites et modes de transmission

- **Mode de transmission** (Tableau 8, figures 14a/b et 15) : **Durant l'année 2016**, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour 72 épidémies (20,7%). Le mode de transmission de **personne à personne, le plus fréquent, est incriminé dans 185 épidémies (53,2%)**. Une origine alimentaire était à l'origine de 83 épidémies (23,8%) et une origine hydrique a été trouvée pour 8 épidémies (2,3%).

*Respectivement pour 2012-2016* (total 1457 épidémies) : Origine inconnue : 398 épidémies (27,3%) ; personne à personne : 770 (52,8%) ; alimentaire : 265 (18,2%) ; origine hydrique : 24 (1,6%).

- **Site ou établissement** (Tableau 8 et figures 14/b et 16) : **La majorité des 348 épidémies en 2016 est**

**survenue dans des EHPAD : 223 soit 64,1%.** Les autres sites sont des services hospitaliers (30 / 8,6%), réceptions ou banquets (48 / 13,8%), écoles ou centres d'enfants (20 / 5,7%), collectivités d'adultes (21 / 6,0%) et communes (6 / 1,7%).

Respectivement pour 2012-2016 : La majorité des épidémies sont survenues en EHPAD (974 / 66,8%), 168 en hôpital (11,5%), 148 lors de réceptions (10,2%), 47 dans des centres pour enfants (3,5%), 99 en centres pour adultes (7,3%) et 21 épidémies (1,7%) dans des communes ou districts.

→ **Qu'il s'agisse du mode de transmission ou du site de l'épidémie, la répartition observée en 2016 est similaire à l'ensemble de la période 2012-2016.**

- **Relation site et mode de transmission** (Tableau 8, figures 14a et b) : La majorité des épidémies provient des EHPAD ou des services hospitaliers. Le mode de transmission est de personne-à-personne (49,1% en 2016 et 48,7% entre 2012-2016) ou inconnu (18,1% en 2016 et 24,8% en 2012-2016). L'origine alimentaire y est toutefois retrouvée dans 5,2% (2016) ou 4,4% (2012-2016) des épidémies. 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

2016	pers à pers	inconnu	aliments	hydrique	Total
EHPAD	156 (44,8%)	52 (14,9%)	14 (4,0%)	1 (0,3%)	223 (64,1%)
hôpitaux	15 (4,3%)	11 (3,2%)	4 (1,1%)	0	30 (8,6%)
réception	3 (0,9%)	1 (0,3%)	44 (12,6%)	0	48 (13,8%)
centre enfants	5 (1,4%)	4 (1,1%)	11 (2,6%)	0	20 (6,0%)
centre adultes	5 (1,4%)	4 (1,1%)	9 (3,2%)	3 (0,9%)	21 (5,7%)
commune	1 (0,3%)	0	1 (0,3%)	4 (1,1%)	6 (1,7%)
Total	185 (53,2%)	72 (20,7%)	83 (23,9%)	8 (2,3%)	348
2012-2016	pers à pers	inconnu	Aliments	eau	Total
EHPAD	619 (42,5%)	299 (20,5%)	50 (3,4%)	6 (0,4%)	974 (66,8%)
hôpitaux	91 (6,2%)	63 (4,3%)	14 (1,0%)	0	168 (11,5%)
réception	8 (0,5%)	6 (0,4%)	134 (9,2%)	0	148 (10,2%)
centres enfants	36 (2,5%)	16 (1,1%)	41 (2,8%)	6 (0,4%)	99 (6,8%)
centres adultes	11 (0,8%)	12 (0,8%)	24 (1,6%)	0	47 (3,2%)
commune	5 (0,3%)	2 (0,1%)	2 (0,1%)	12 (0,8%)	21 (1,4%)
Total	770 (52,8%)	398 (27,3%)	265 (18,2%)	24 (1,6%)	1457

Tableau 8 : Répartition des épidémies selon le site et le mode de contamination. Les observations rapportées pour 2016 ne sont pas significativement différentes de celles des années 2012 à 2016. (Tableau 8 et figures 14).

- Le nombre d'épidémies par saison est lié à l'émergence d'un nouveau virus (variant ou génotype). La surveillance 2012–2016 en est un exemple avec une forte épidémie durant la **saison hivernale 2012–2013 due au nouveau variant GII.4 2012 ou Sydney** (Figures 15 à 19).
  - **La saison 2015–2016 est particulière, l'épidémie est due à l'émergence d'un génotype GII.17.** Elle a été importante mais plus tardive et plus étalée, jusqu'en avril 2016, ainsi le pic épidémique est un des plus bas. Contrairement aux variants GII.4 plus fréquemment retrouvés dans les épidémies transmises de personne à personne, ce génotype GII.17 est retrouvé dans les épidémies en EHPAD transmises de personne à personne et également dans celles observées lors de réceptions ou d'origine alimentaire.
  - **L'épidémie 2016-2017 a montré un retour des variants GII.4 2012, mais principalement sous une forme recombinante GII.16/GII.4 2012** (associé avec une polymérase GII.16). Le génotype GII.17, toujours présent, n'est plus majoritaire.

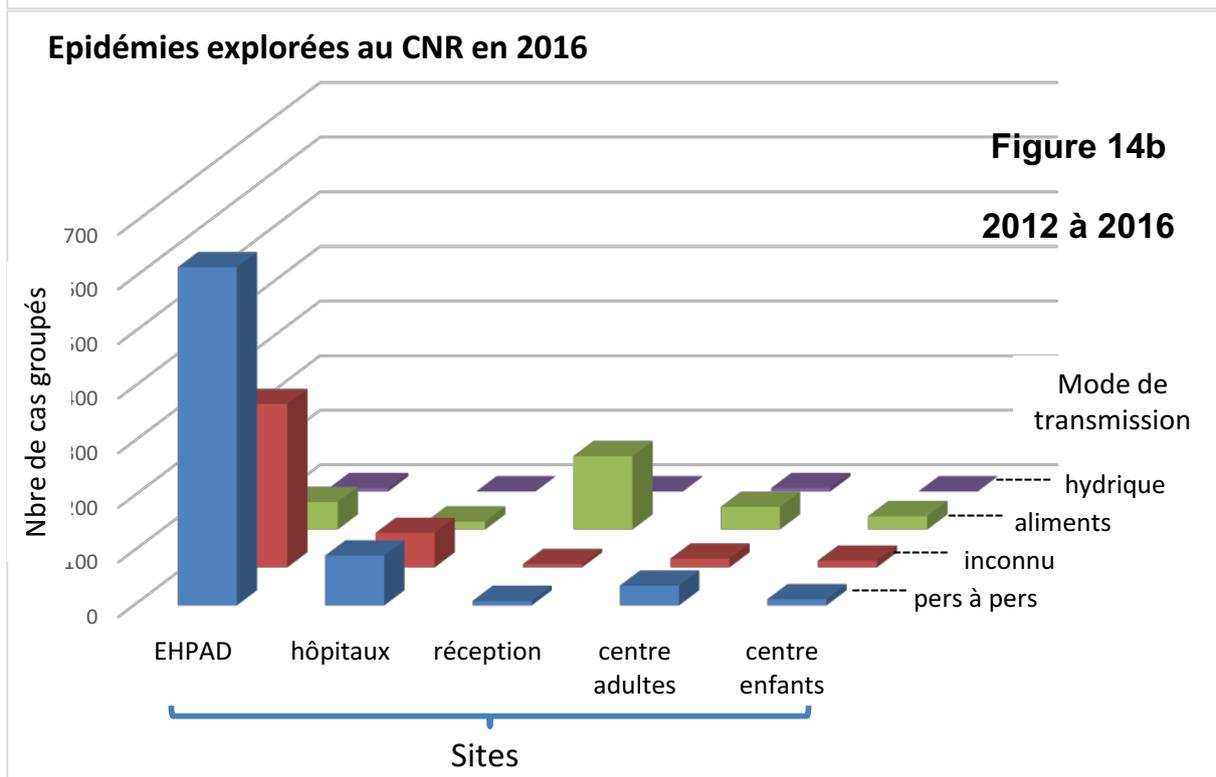
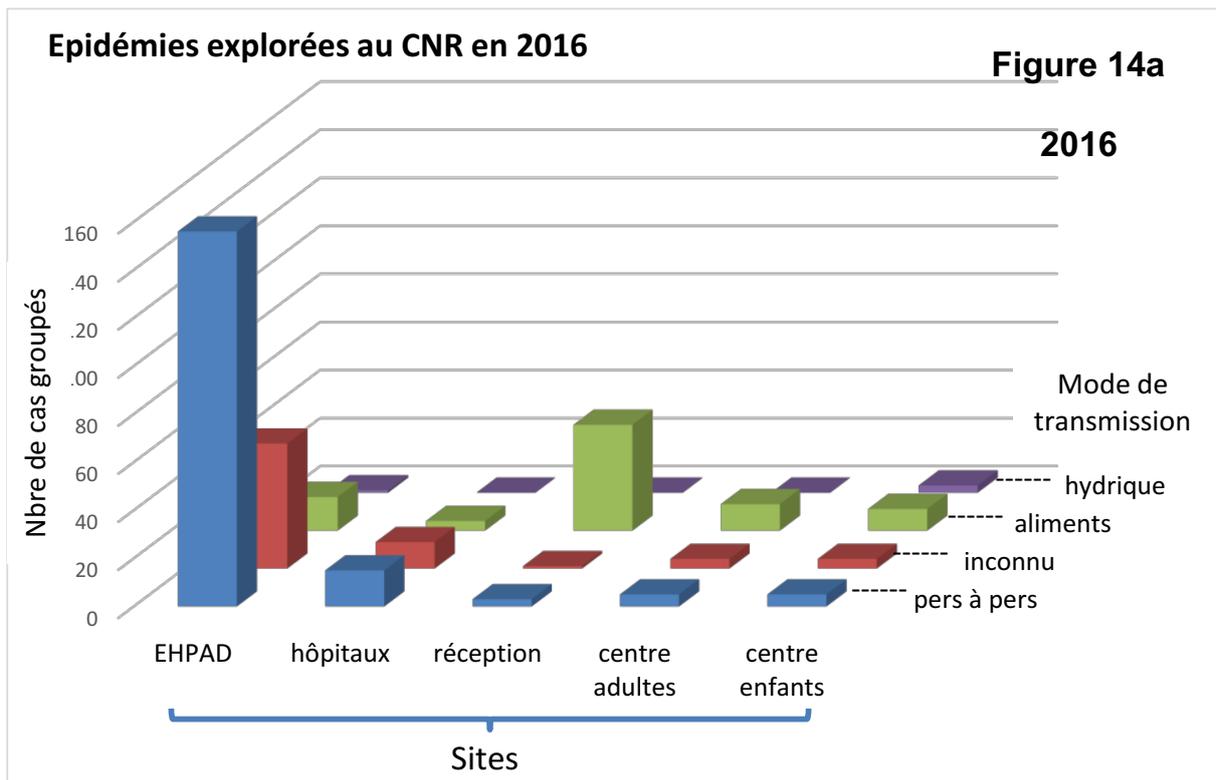
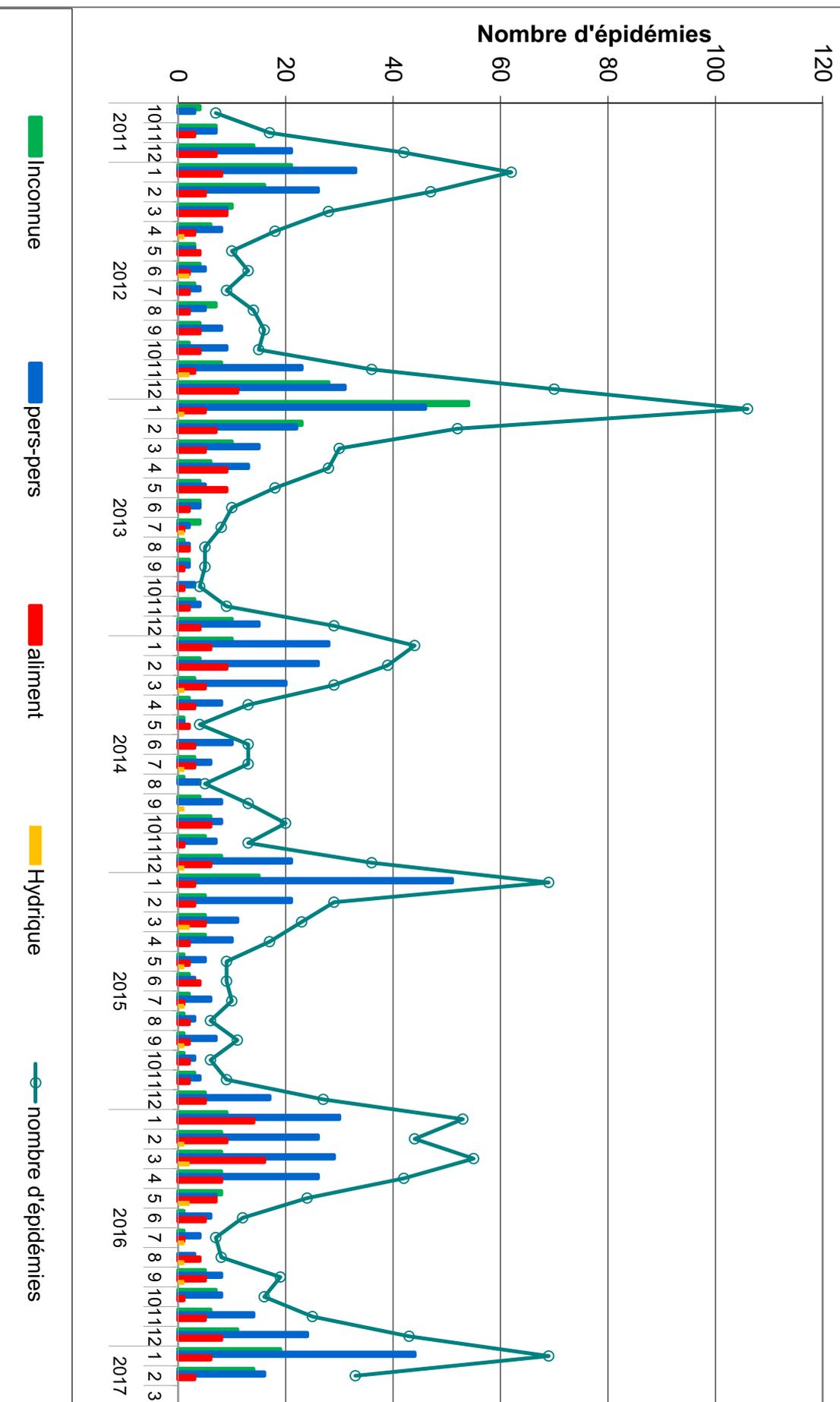


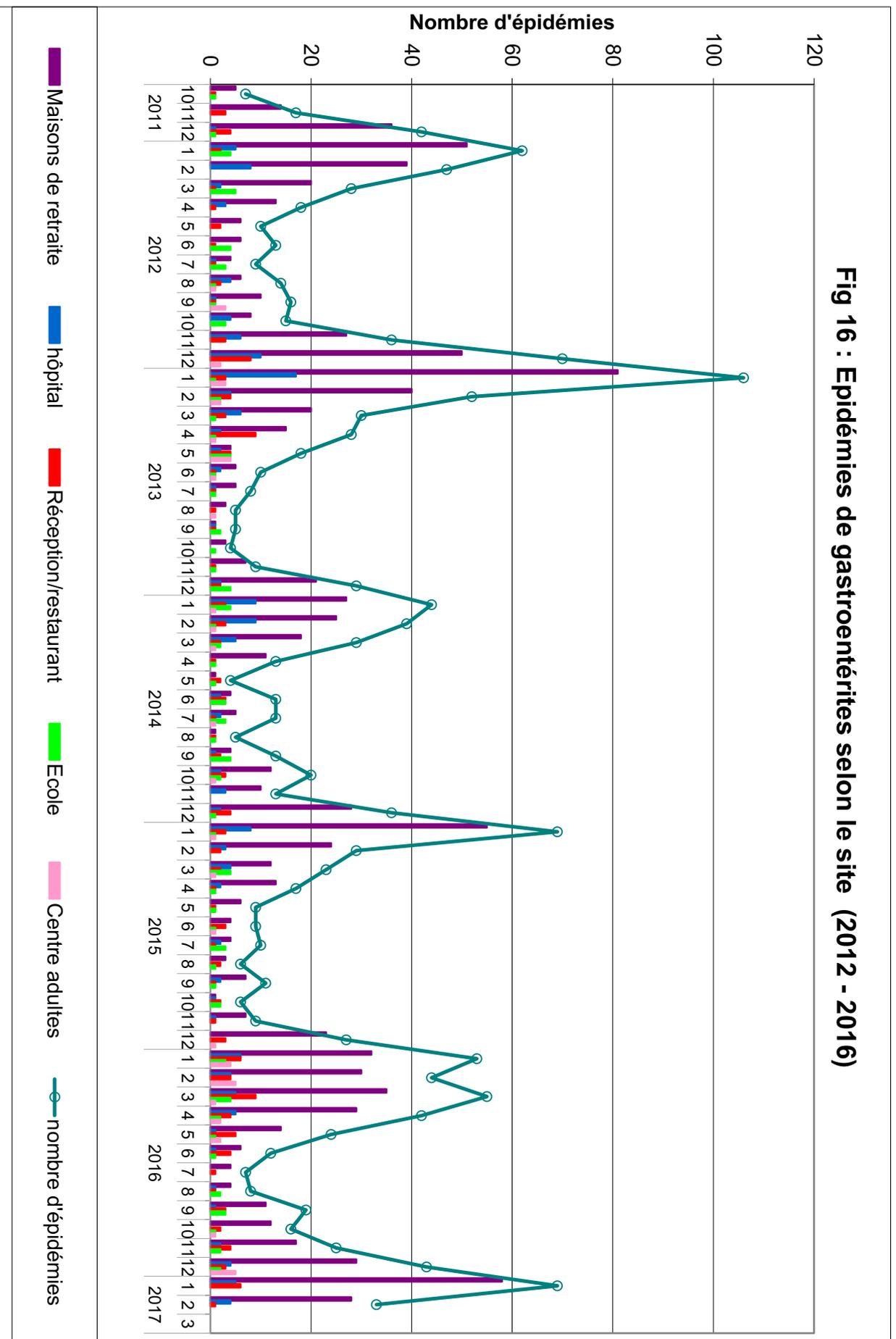
Figure 14 : Relation entre type d'établissement et le mode de transmission : (a) Bilan de l'activité du CNR en 2016 et (b) bilan de l'activité entre 2012 et 2016.

Figures 15 et 16 : Evolution de cette activité depuis la saison 2011/2012 à 2016/2017.

**Fig 15: Transmission des épidémies de gastroentérites en collectivités (2012 - 2016)**



**Fig 16 : Epidémies de gastroentérites selon le site (2012 - 2016)**



### 3.2.3.3. Virus en cause (Figures 17 à 19)

- **Depuis janvier 2012 jusqu'à décembre 2016**, 1457 épidémies ont été investiguées, pour 1218 d'entre elles un virus était retrouvé dans les selles analysées (83,6%). Le virus en cause est majoritairement un **norovirus** (1100 épidémies soit 90,3% des épidémies positives) et pour 1031 épidémies (84,6%) il était le seul virus détecté (la figure 17 montre l'évolution depuis l'hiver 2011/2012). Parmi les norovirus, ceux du génogroupe II (1026 épidémies et 1059 souches) et plus particulièrement le génotype GII.4 (618 épidémies et 648 souches), sont largement prédominants (figures 17 et 18). Dans 121 épidémies (9,9% des épidémies positives) nous avons retrouvé un autre virus responsable : principalement rotavirus, sapovirus, adénovirus, astrovirus. Les virus Aichi étaient retrouvés essentiellement associés à d'autres virus. Aucun virus n'a été détecté pour 238 épidémies soit 16,3% des épidémies traitées.

- **Pour l'année 2016** : 348 épidémies dont 290 avec au moins 1 virus (83,3%) ; un norovirus seul ou associé à un autre virus dans 273 épidémies (94,3% des épidémies positives) et seul dans 254 épidémies. Un autre virus a été retrouvé seul dans 13 épidémies (4,5%). Aucun virus n'a été détecté dans 58 épidémies soit 16,7%. Ces données sont voisines celles obtenues sur l'ensemble des années rapportées.

**La modification majeure de ces derniers mois de surveillance est l'émergence du génotype GII.17 lors de la saison hivernale 2015-2016 (129 épidémies à GII.17 contre 42 au GII.4 2012) et son remplacement fin 2016 par des variants GII.4 2012 principalement de ces nouveaux recombinants ayant une polymérase proche du génotype GII.16 (les recombinants GII.16/ GII.4 2012 et GII.16/ GII.2 (tableau 4 et figure 19).**

Le génotype GII.6 ou GII.7 ou les recombinants GII.7/6 sont responsables selon les années, d'un nombre significatif d'épidémies, cela a été le cas lors des hivers 2011/2012 et 2013/2014. Nous n'avons pas observé un nombre significatif d'épidémies liées à ce génotype en 2016 (tableau 4).

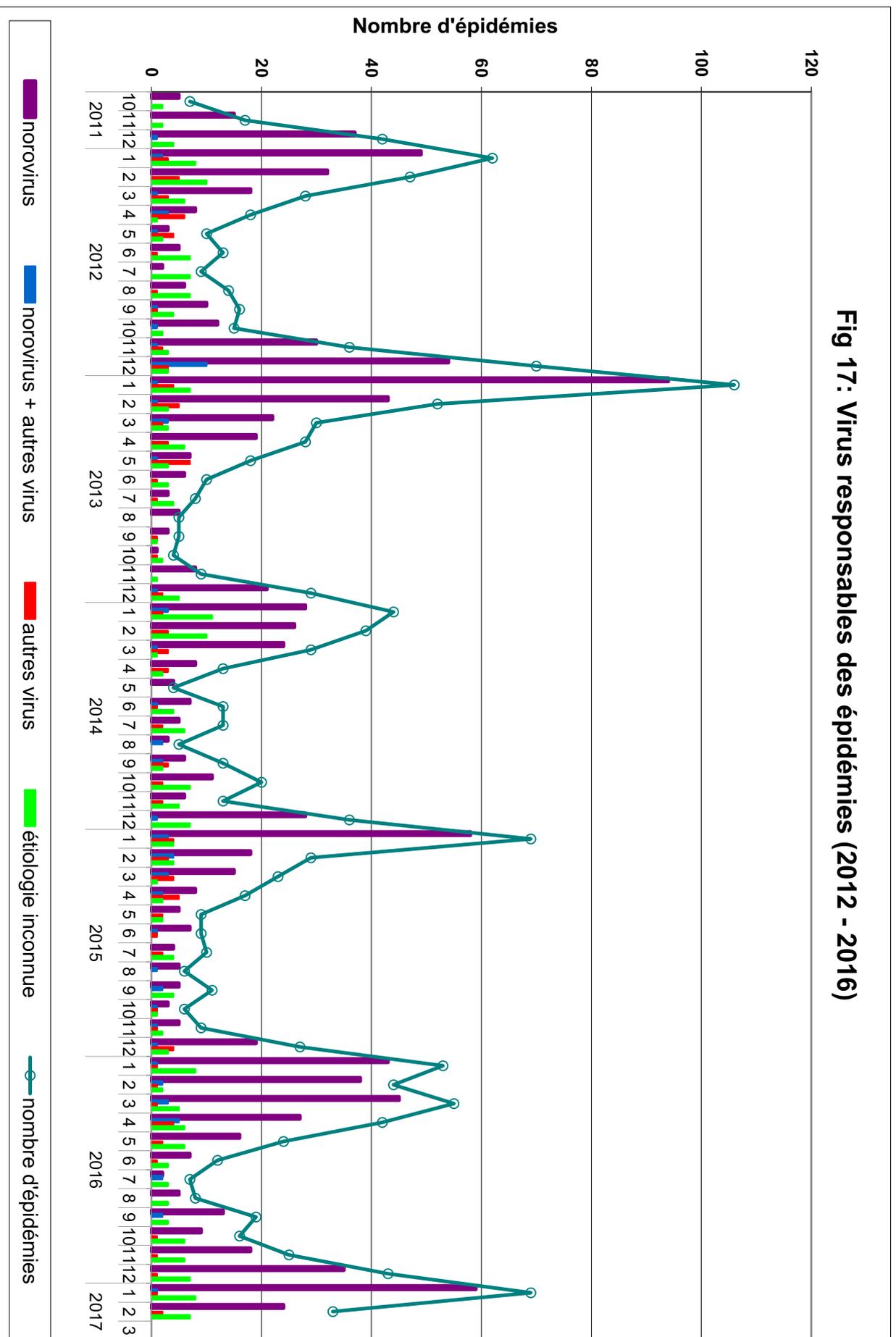
- **Caractéristiques des épidémies dues aux norovirus GII.4 (figure 20):**

Les figures 20 a, b, c et d analyses la distribution des génotypes de norovirus (20 a et b) ainsi que leur nombre (20 c et d) dans chaque prélèvement en fonction du mode de transmission ou du site de survenu de l'épidémie.

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. Les épidémies transmises de personne à personne sont ainsi plus fréquemment dues à un seul virus, voire 2 virus. Au contraire, les épidémies à norovirus GII.4 sont nettement moins fréquentes lorsqu'il s'agit d'une source alimentaire où jusqu'à 3 norovirus de génotypes différents peuvent être isolés

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

Fig 17: Virus responsables des épidémies (2012 - 2016)



**Fig 18 : Répartition des génogroupes de norovirus par épidémie (2012 - 2016)**

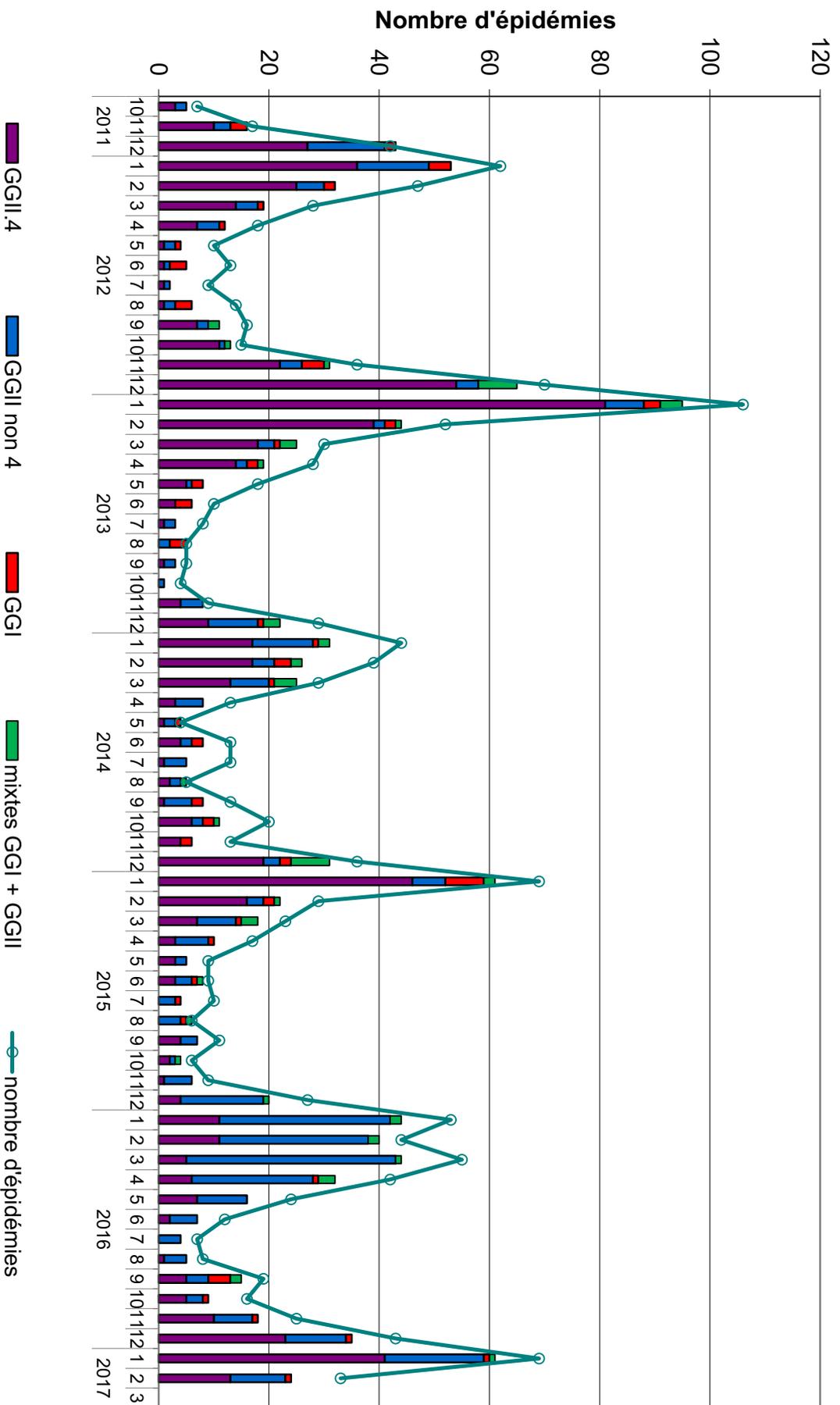
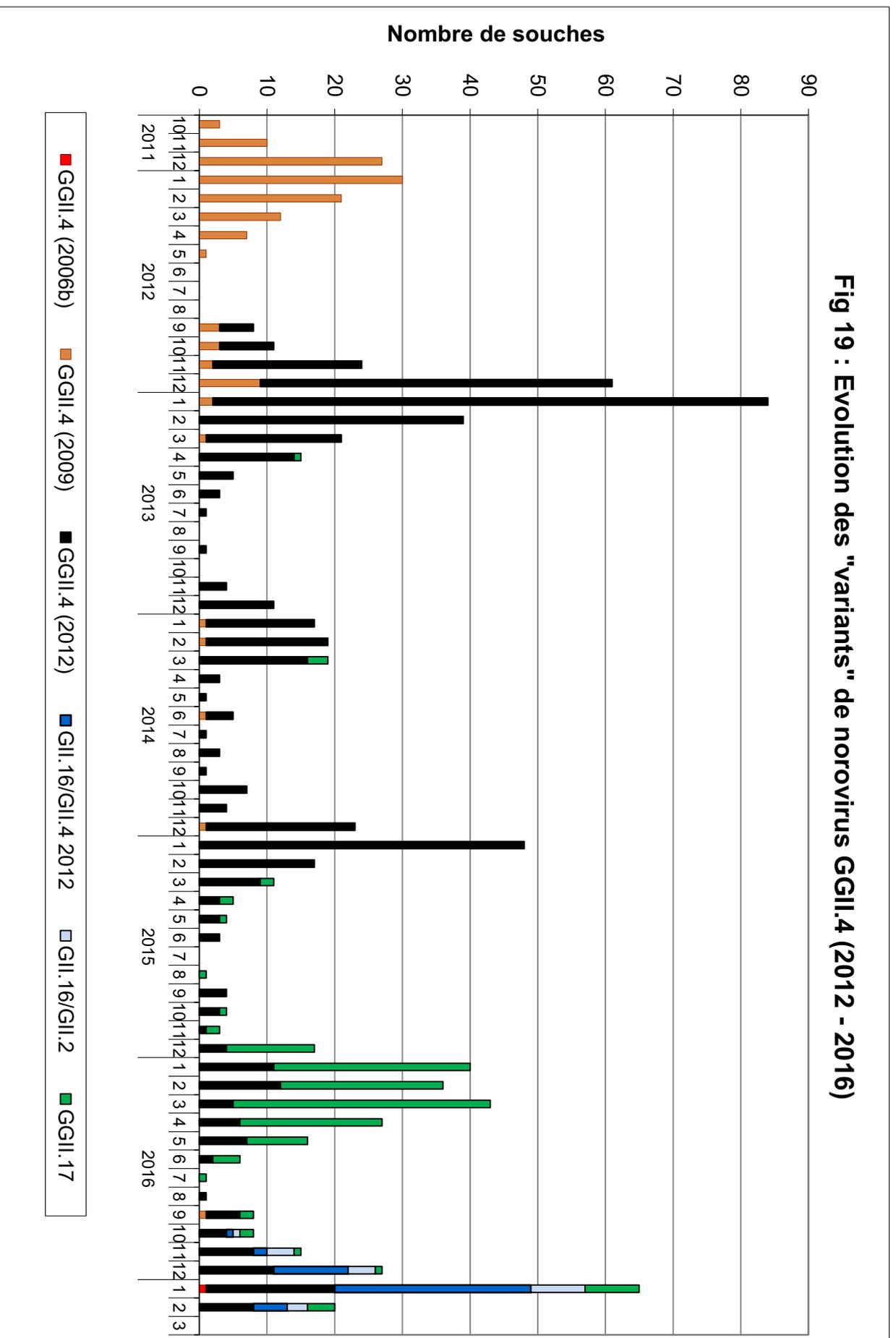


Fig 19 : Evolution des "variants" de norovirus GII.4 (2012 - 2016)



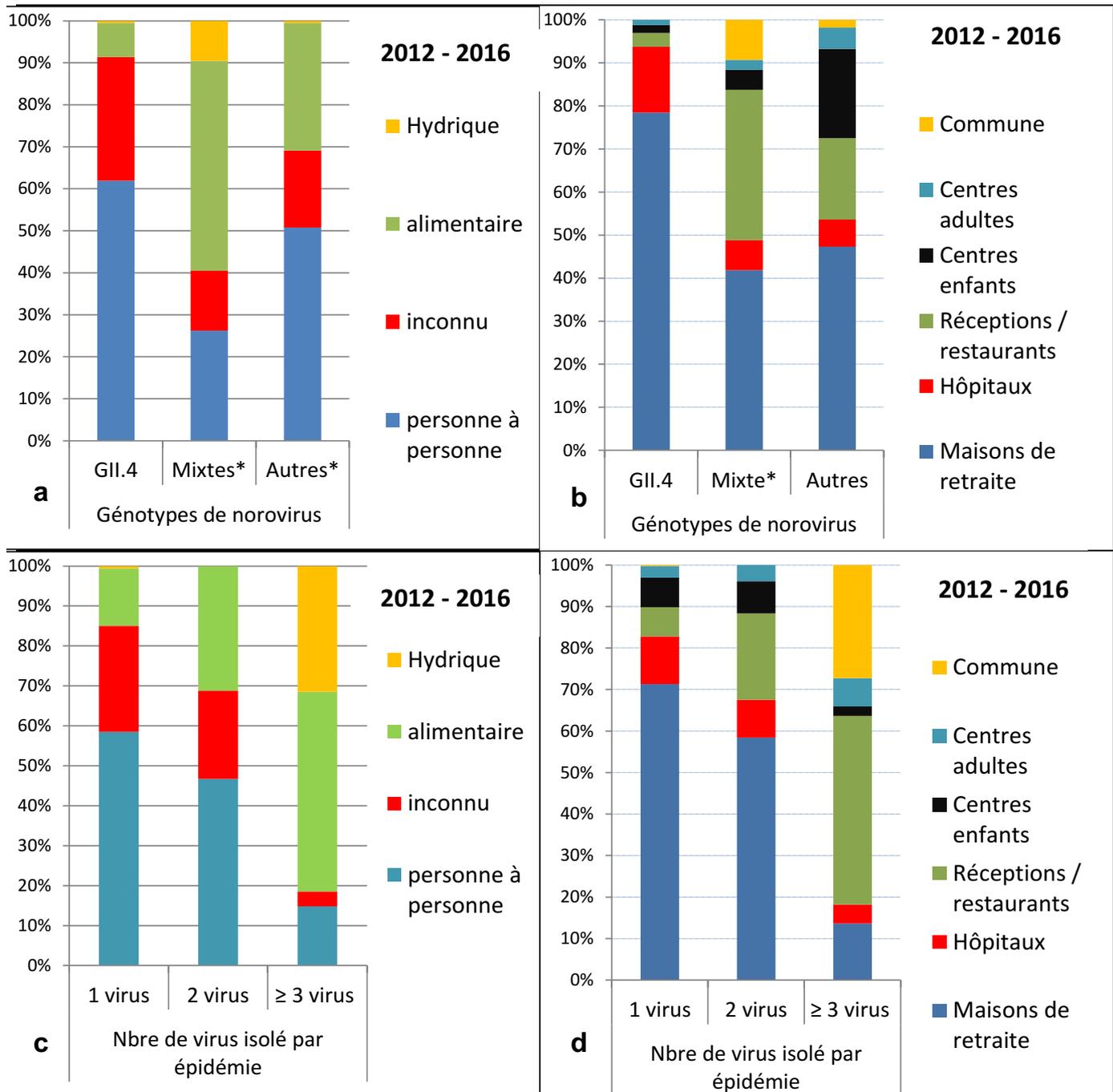


Figure 20a et b : Caractéristiques des épidémies survenues entre 2012 et 2016. Celles dues aux norovirus de génotype GII.4 sont plus fréquemment transmises de personne à personne et surviennent principalement en maison de retraite ou dans les services hospitaliers. De même, on y retrouvera au maximum 2 norovirus différents. Au contraire, dans les épidémies d'origine alimentaire ou hydrique on retrouve plus fréquemment plusieurs norovirus différents (≥).

### 3.3. Participation aux réseaux de surveillance internationaux

#### 3.3.1. Réseau internationaux « FBVE-Net », NoroNet » et « EuroRotaNet »

Le **réseau européen « FBVE-Net »** regroupe les laboratoires des réseaux européens constitués à partir de financements de la Communauté Européenne. Nos partenaires français dans ce réseau sont SPF, 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 SPF et l'IFREMER. **Le CNR des virus des gastro-entérites de Dijon fait partie de ces deux réseaux depuis leur création.** Ces réseaux ont pour mission la surveillance et la caractérisation des virus responsables de gastroentérites, essentiellement les norovirus. Ils nous offrent l'accès et le partage d'une base de données ; la possibilité d'une comparaison des souches de norovirus et d'une surveillance prospective des nouveaux variants. Ils sont des outils majeurs de la caractérisation des souches de norovirus détectées.

Le **réseau « EuroRotanet »** a pour mission la surveillance et la caractérisation des rotavirus responsables des gastroentérites chez les enfants. **Le CNR des virus des gastro-entérites 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 virologiques et épidémiologiques.

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

- *Composition des réseaux européens : Ces réseaux regroupent 14 laboratoires de 12 pays européens : **Pays Bas:** RIVM, Bilthoven (Dr M. Koopmans) ; **Finlande:** Helsinki University Central Hospital (Dr von Bonsdorff KH) ; **Danemark:** Virus Diagnostics Laboratory, Copenhague (Dr Böttiger) ; **Suède:** Karolinska Institute, Slona (Dr Svensson L) ; **Grande Bretagne:** Central Public Health Laboratory, London (Dr Brown D) ; **Allemagne:** Robert Koch-Institut, Berlin (Dr Schreier E) ; **Espagne:** Institut de Salud Carlos III, Madrid (Dr Sanchez A), Universitat de Barcelona (Dr Bosch A) et Universitat de Valencia (Dr Buesa J) ; **Italie:** 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 (F. Le Guyader S), CNR hépatites A (APHP Paul Brousse, E. Roque-Afonso) et E (CHU Toulouse, J. Izopet), CNR virus des gastro-entérites (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 avec le Maghreb (2016 : Tunisie).

Ces collaborations ont été soutenues par les **programmes CMCU et Hubert Curien** du Ministère des Affaires Etrangères et du Ministère de la Recherche.

Durant l'année 2016 ce réseau a été principalement actif avec la **Tunisie**. Nous avons accueilli :

- Mlle Siwar AYOUNI (étudiante en thèse, co-tutelle Université de Bourgogne, Université de Carthage)
- Mme Khira SDIRI-LOULIZI (chercheur universitaire invité de l'Université de Monastir)

### **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). Nous avons étendu cette collaboration au Burkina Faso à partir de 2011 et jusqu'à présent dans le cadre d'un programme « PARRAF ».

**En 2016, le programme PARRAF** 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**).

## **3.4. Etudes ponctuelles concourant à la surveillance**

### **3.4.1. Suivi des établissements long séjour du CHU de Dijon**

- Ce travail prospectif de surveillance a été commencé fin 2016. Il s'agit d'étudier le microbiote intestinal chez les patients présentant une diarrhée virale (collaboration avec l'Institut MICALIS, INRA. Philippe LANGELLA et Harry SOKOL)

### **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 recherchons par une approche métagénomique la présence de virus inhabituels ou nouveaux dans les selles de patients diarrhéiques préalablement sélectionnés. En 2015/2016 cette recherche nous a permis de caractériser de nouveaux virus pour lesquels le nom de *Smacoviridae* a été proposé pour dénommer la famille virale.

Ng TF, Zhang W, Sachsenröder J, Kondov NO, da Costa AC, Vega E, Holtz LR, Wu G, Wang D, Stine CO, Antonio M, Mulvaney US, Muench MO, Deng X, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**, Vinjé J, Delwart E. A diverse group of small circular ssDNA viral genomes in human and non-human primate stools. *Virus Evol.* 2015 Dec 31;1(1):vev017.

## 4. ALERTE

### 4.1. CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE (SPF)

Un point hebdomadaire avec Santé Publique France est effectué le mardi par rendez-vous téléphonique. Le réseau sentinelle est associé à cette réunion téléphonique.

Nos contacts à SPF sont Madame Nathalie JOURDAN-DA SILVA et Madame Nelly FOURNET. Notre interlocuteur au réseau sentinelle est Monsieur Thomas GORONFLOT depuis l'automne 2016.

### 4.2. PROCEDURES D'ALERTE DE SPF ET DES AUTRES PARTENAIRES

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

- ✓ Informer le demandeur de l'existence de **formulaires à remplir disponibles sur le site internet**.
- ✓ 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 SPF (<https://voozanoo.invs.sante.fr>).

#### 4.2.2. Arrivée de prélèvements sans annonce préalable :

- ✓ Suivre la procédure décrite pour une épidémie annoncée par téléphone.
- ✓ Si les prélèvements ne sont pas accompagnés des formulaires du CNR, envoyés au prescripteur, par fax ou par mail, les formulaires pour avoir des renseignements sur l'épidémie.  
**Important : Penser à noter la date de réception des prélèvements sur les papiers joints (formulaire du CNR, prescription, feuille de laboratoire...)**

### 4.3. DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

#### 4.3.1. Transmission des données à SPF

**Voozanoo** (<https://voozanoo.invs.sante.fr>) :

Voozanoo est une base de données partagée entre SPF et le CNR, qui permet un échange en temps réel des informations épidémiologiques et moléculaires sur les épidémies de 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**

- ✓ Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à SPF, créer une nouvelle fiche pour entrer les premières informations.

##### 4.3.1.2. Rendu des résultats à SPF :

Les résultats préliminaires et définitifs sont entrés dans la base **Voozanoo** de SPF.

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

#### 4.3.2. Anonymisation des prélèvements

**Enregistrement des prélèvements reçus au CNR**

- ✓ Repérer sur le tableau de synthèse (S:\CNR Virus Enteriques\Tableaux de synthèse\Synthèse échantillons) le ou les numéros et identifier chacun des échantillons face au numéro en fin de

liste (commencer par **E...**) puis les enregistrer sur le **serveur du CHU** (S:\CNR Virus Entériques\ Tableaux de synthèse\Synthèse échantillons).

#### **Classement des dossiers**

Annexer les documents joints aux prélèvements dans une chemise identifiée par :

- ✓ le **nom de la ville** qui a inspiré le numéro d'identifiant
- ✓ l'**identifiant de l'épidémie** (*code département / 2 premières lettres de la ville / mois / année*)
- ✓ le **numéro** du carton suivi du numéro de la chemise (Exemple : 15.03 correspond au carton n°15, la chemise n°3 dans ce carton)
- ✓ les **numéros des échantillons** correspondants (E... à E...)

## 5. Activités 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 moyens de communication et d'information.

Lien web : [www.cnr-ve.org](http://www.cnr-ve.org)

### 5.2. Activité de conseil

- **ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament)** : participation régulière au Groupe de Travail « Sécurité virale ».
- 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.

**Stagiaires accueillis en 2016 :**

- Mademoiselle Siwar AYOUNI (Université de Monastir, Tunisie), jusqu'en juin 2016
- Madame Khira SDIRI-LOULIZI (Université Monastir, Tunisie), régulièrement en 2016.
- Mademoiselle Mélanie JOGUIN
- Monsieur Vincent TESSON (Doctorant, INRA Avignon)
- Monsieur Georges TARRIS (interne en anatomie pathologique au CHU de Dijon, année recherche Nov 2016-Nov 2017)
- Monsieur Bastien CAUQUIL (interne en biologie au CHU de Dijon)
- Monsieur Philippe PICHERIT-STEINBRUCKER (étudiant en médecine en stage M1 d'initiation à la recherche).

### 5.4. Colloques et réunions scientifiques

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

Participations détaillées dans le chapitre « [6.2.5 Communications sur invitation](#) »

## 6. Travaux de recherche et publications en lien avec l'activité du CNR

### 6.1. Activités de recherche en lien avec les missions du CNR

#### 6.1.1. Etudes appliquées : Evaluation de réactifs pour la détection des norovirus dont le nouveau génotype GII.17

- **Evaluation of immunochromatographic tests for the rapid detection of the emerging GII.17 norovirus in stool samples, January 2016.** (publication 5)

Théry L, Bidalot M, Pothier P, Ambert-Balay K. Euro Surveill. 2016;21(4).

Ces évaluations répondent à une demande des industriels du diagnostic et des laboratoires.

#### 6.1.2. Etudes épidémiologiques en France et Europe:

##### 6.1.2.1. Epidémiologie moléculaire des norovirus et évolution des souches.

- **Emergence of new recombinant norovirus GII.P16-GII.4 and GII.P16-GII.2, in France, winter 2016-17.** Soumise à publication (n°13).

Bidalot M, Théry L, Kaplon J, de Rougemont A, Ambert-Balay K. Soumis à Eurosurveillance

##### 6.1.2.2. Epidémiologie moléculaire des rotavirus.

- **Clinical severity and molecular characteristics of circulating and emerging rotaviruses in young children attending hospital emergency departments in France.** (Publication 7).

De Rougemont A, Kaplon J, Fremy C, Aho S, Pothier P. French National Rotavirus, Network. Clin Microbiol Infect. 2016; 22(8):737.e9-15.

##### 6.1.2.3. Epidémiologie des gastro-entérites communautaires et en institutions.

- **A rapid investigation of an outbreak of diarrhoeal illness in participants of Adventure Race - Alpes-Maritimes, France, June 2015.** (Publication 6).

Six C, Aboukais S, Giron S, D'Oliveira J-C, Peloux-Petiot F, Franke F, Terrien H, Dassonville F, Deniau J, Ambert-Balay K, Chesnot T, Ruimy R, Pélandakis M, Basset P, Munoz Rivero M, Malfait P. Euro Surveill. 2016 ; 21(23).

- **Surveillance des gastro-entérites aiguës (GEA) en Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (Ehpad). Bilan national des cinq saisons de surveillance hivernales (Novembre 2010 - Mai 2015).** (Publication 1).

Septfonds A, Barret AM, Leon L, Baroux N, Turbelin C, Tillaut H, Noury U, Barataud D, Hubert B, Chiron E, Ambert-Balay K, Jourdan-Da Silva N. *Bull Epidemiol Hebd*, 2016 ;(18-19) : 334-43.

##### 6.1.2.4. Epidémiologie des gastro-entérites liée à la consommation d'aliment.

- **Norovirus GII.17 Outbreak Linked to an Infected Post-Symptomatic Food Worker in a French Military Unit Located in France..** (Publication 11).

Sanchez MA, Corcostégui SP, De Broucker CA, Cabre O, Watier-Grillot S, Perelle S, Ambert-Balay K, Pommier de Santi V. Food Environ Virol. 2016 Dec 1. doi: 10.1007.

- **Toxi-infection alimentaire collective à norovirus liée à la consommation d'huîtres lors d'un repas d'entreprise – étude de cohorte, Toulouse, Janvier 2015.** (Publication 2).

Durand C, Fournet N, Camberlin-Defrocourt S, Le Saux J-C, Le Guyader S, Donguy M-P, Ambert-Balay K, Mouly D. *Bull Epidemiol Hebd*. 2016 ;(26-27) :438-43

La surveillance épidémiologique du CNR implique nos différents partenaires travaillant en santé publique, environnement, hygiène alimentaire et santé animale. Elle a mis en évidence l'émergence des norovirus GII.17 durant l'hiver 2015/2016 (Sanchez MA et al, Food Environ Virol. 2016). L'analyse des interactions de ce génotype à l'aide de VLP produites au laboratoire avec les antigènes de groupe sanguin, ligands naturels des norovirus humains, est en cours pour déterminer quels sont les facteurs expliquant la prédominance sur le territoire de ce nouveau génotype.

### 6.1.3. Etudes de cas cliniques

- **Fatal case of acute gastroenteritis with multiple viral coinfections.** (Publication 3)

Lupo J, Morel-Baccard C, Michard-Lenoir AP, Germe R, **Pothier P, Ambert-Balay K**, Morand P. J Clin Virol. 2016 Jan;74:54-6..

Ce cas Clinique résulte des collaborations que nous entretenons avec l'ensemble des cliniciens des hôpitaux français.

### 6.1.4. Epidémiologie en Afrique subsaharienne et Tunisie.

- **Prevalence and Genetic Diversity of Enteric Viruses in Children with Diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso.** (Publication 5).

Ouédraogo N, **Kaplon J**, Bonkougou IJ, Traoré AS, **Pothier P**, Barro N, **Ambert-Balay K**. PLoS One. 2016 Apr 19;11(4):e0153652. doi: 10.1371/journal.pone.0153652. eCollection 2016.

- **Cosavirus, Salivirus and Bufavirus in Diarrheal Tunisian Infants.** (Publication 9).

**Ayouni S, Estienney M**, Hammami S, Neji Guediche M, **Pothier P**, Aouni M, **Belliot G, de Rougemont A**. PLoS One. 2016 Sep 15;11(9):e0162255. doi: 10.1371/journal.pone.0162255

Ces études épidémiologiques effectuées dans des pays ayant des échanges humains avec la France sont importantes pour apprécier les risques d'importation de nouvelles souches ou de nouveaux virus.

### 6.1.5. Etudes épidémiologiques chez les animaux.

- **The molecular epidemiology of bovine rotaviruses circulating in Iran: a two-year study.** (Publication 8).

Pourasgari F, **Kaplon J**, Karimi-Naghlani S, **Fremy C**, Otarod V, **Ambert-Balay K**, Mirjalili A, **Pothier P**. Arch Virol. 2016 Dec;161(12):3483-3494.

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.

### 6.1.6. Recherche fondamentale en lien avec les activités de CNR :

- **HS-AFM and SERS Analysis of Murine Norovirus Infection: Involvement of the Lipid Rafts.** (Publication 10)

Aybeke EN, **Belliot G**, Lemaire-Ewing S, **Estienney M**, Lacroute Y, **Pothier P**, Bourillot E, Lesniewska E. Small. 2017 Jan;13(1). doi: 10.1002/smll.201600918.

- **A Biocatalytic Nanomaterial for the Label-free Detection of Virus-like Particles.** (Publication 12)

Sykora S, Correro MR, Moridi N, **Belliot G, Pothier P**, Dudal Y, Corvini P, Shahgaldian P. Chembiochem. 2017 Mar 15. doi: 10.1002/cbic.201700126.

Le CNR a constitué une banque biologique incluant anticorps, antigène de synthèse (pseudo-particules virales ou VLP : virus like particle), un norovirus murin (MNV souche CW1) adapté à la culture cellulaire et pouvant servir comme les VLP de substitut au norovirus humains. VLP et MNV sont utilisés par notre laboratoire lors de projets de recherche fondamentale. L'utilisation de ces substituts des norovirus humains a permis de démontrer que l'attachement du MNV à la cellule dépendait des radeaux lipidiques et qu'il y avait une dépendance au cholestérol, cette dépendance étant absente pour les norovirus humains (Aybeke et al., Small. 2017 Jan;13(1)). Le CNRVE est aussi impliqué dans des travaux appliqués comme la recherche de système innovant de détection des virus entériques à partir de piège moléculaire en silice (Sykora et al., Chembiochem. 2017 Mar 15).

## 6.2. Publications en lien avec les activités du CNR (2016)

### 6.2.1. Publications nationales :

1. Septfons A, Barret AM, Leon L, Baroux N, Turbelin C, Tillaut H, Noury U, Barataud D, Hubert B, Chiron E, **Ambert-Balay K**, Jourdan-Da Silva N. Surveillance des gastro-entérites aiguës (GEA) en Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (Ehpad). Bilan national des cinq saisons de surveillance hivernales (Novembre 2010 - Mai 2015). *Bull Epidemiol Hebd*, 2016 ;(18-19) : 334-43.
2. Durand C, Fournet N, Camberlin-Defrocourt S, Le Saux J-C, Le Guyader S, Donguy M-P, **Ambert-Balay K**, Mouly D. Toxi-infection alimentaire collective à norovirus liée à la consommation d'huîtres lors d'un repas d'entreprise – étude de cohorte, Toulouse, Janvier 2015. *Bull Epidemiol Hebd*. 2016 ;(26-27) :438-43

### 6.2.2. Publications internationales :

3. Lupo J, Morel-Baccard C, Michard-Lenoir AP, Germe R, **Pothier P**, **Ambert-Balay K**, Morand P. Fatal case of acute gastroenteritis with multiple viral coinfections. *J Clin Virol*. 2016 Jan;74:54-6.
4. **Théry L**, **Bidalot M**, **Pothier P**, **Ambert-Balay K**. Evaluation of immunochromatographic tests for the rapid detection of the emerging GII.17 norovirus in stool samples, January 2016. *Euro Surveill*. 2016;21(4).
5. Ouédraogo N, **Kaplon J**, Bonkougou IJ, Traoré AS, **Pothier P**, Barro N, **Ambert-Balay K**. Prevalence and Genetic Diversity of Enteric Viruses in Children with Diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso. *PLoS One*. 2016 Apr 19;11(4):e0153652. doi: 10.1371/journal.pone.0153652. eCollection 2016.
6. Six C, Aboukais S, Giron S, D'Oliveira J-C, Peloux-Petiot F, Franke F, Terrien H, Dassonville F, Deniau J, **Ambert-Balay K**, Chesnot T, Ruimy R, Pélandakis M, Basset P, Munoz Rivero M, Malfait P. A rapid investigation of an outbreak of diarrhoeal illness in participants of Adventure Race - Alpes-Maritimes, France, June 2015 *Eurosurveillance*. *Euro Surveill*. 2016;21(23).
7. **De Rougemont A**, **Kaplon J**, **Fremy C**, Aho S, **Pothier P**. Clinical severity and molecular characteristics of circulating and emerging rotaviruses in young children attending hospital emergency departments in France French National Rotavirus, Network. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22(8):737.e9-15
8. Pourasgari F, **Kaplon J**, Karimi-Naghani S, **Fremy C**, Otarod V, **Ambert-Balay K**, Mirjalili A, **Pothier P**. The molecular epidemiology of bovine rotaviruses circulating in Iran: a two-year study. *Arch Virol*. 2016 Dec;161(12):3483-3494.
9. **Ayouni S**, **Estienney M**, Hammami S, Neji Guediche M, **Pothier P**, Aouni M, **Belliot G**, **de Rougemont A**. Cosavirus, Salivirus and Bufavirus in Diarrheal Tunisian Infants. *PLoS One*. 2016 Sep 15;11(9):e0162255. doi: 10.1371/journal.pone.0162255.
10. Aybeke EN, **Belliot G**, Lemaire-Ewing S, **Estienney M**, Lacroute Y, **Pothier P**, Bourillot E, Lesniewska E. HS-AFM and SERS Analysis of Murine Norovirus Infection: Involvement of the Lipid Rafts. *Small*. 2017 Jan;13(1). doi: 10.1002/sml.201600918.
11. Sanchez MA, Corcostégui SP, De Broucker CA, Cabre O, Watier-Grillot S, Perelle S, **Ambert-Balay K**, Pommier de Santi V. Norovirus GII.17 Outbreak Linked to an Infected Post-Symptomatic Food Worker in a French Military Unit Located in France. *Food Environ Virol*. 2016 Dec 1. . doi: 10.1007
12. Sykora S, Correro MR, Moridi N, **Belliot G**, **Pothier P**, Dudal Y, Corvini P, Shahgaldian P. A Biocatalytic Nanomaterial for the Label-free Detection of Virus-like Particles. *Chembiochem*. 2017 Mar 15. doi: 10.1002/cbic.201700126.

#### **Articles soumis à publication:**

13. **Bidalot M**, **Théry L**, **Kaplon J**, **de Rougemont A**, **Ambert-Balay K** Emergence of new recombinant norovirus GII.P16-GII.4 and GII.P16-GII.2, in France, winter 2016-17. Soumis à Eurosurveillance

### 6.2.3. Communications nationales :

- 1.

### 6.2.4. Communications internationales :

- 1.

### 6.2.5. Communications sur invitation :

1. Actualités sur les virus entériques. Congrès de la Société Française de Microbiologie, SFM 2016, Paris, 22 mars 2016 (**de Rougemont A**).
2. Actualités choisies en virologie. Cercle des Pédiatres de Bourgogne, Dijon, 19 mai 2016 (**de Rougemont A**).
3. Norovirus : données épidémiologiques et approches diagnostiques, Colloque virus et aliments : « Recherche caractérisation et maîtrise du danger viral dans les aliments », UMT Actia ViroControl, Paris, 10 juin 2016 (**de Rougemont A**).

## **7. Coopération avec laboratoires de santé animale, hygiène alimentaire, environnement**

### **7.1. Coopérations structurelles dans le cadre de nos activités de surveillance et d'alerte**

**Santé Publique France** : nos interlocuteurs sont les Dr Nathalie JOURDAN-DA SILVA et Nelly FOURNET

**Réseau Sentinelle** : Notre interlocuteur est Thomas GORONFLOT.

**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. Coopérations dans le cadre de projets de recherche**

#### **7.2.1. Coopérations universitaires**

Le projet « Spiceclean » 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 a conduit à l'intégration de notre équipe de recherche dans ce laboratoire.

#### **7.2.2. Projets LABEX, ANR et autres déposés en 2014**

##### **Projet européen OXYVIR**

Le CNRVE participera à partir de 2017 au projet OXYVIR portant sur la survie des norovirus et l'étude de leur pouvoir infectieux en conchyliculture et en particulier en ostréiculture. Le projet OXYVIR est subventionné par les Fonds européens pour les affaires maritimes et la pêche (FEAMP) et s'étalera sur 3 ans. Dans le cadre de ce projet, le CNRVE apportera son expertise scientifique et technologique sur les norovirus et l'utilisation de particules virales de synthèse. Les membres du consortium sont les suivants :

- ACTALIA (Saint Lô, association Loi 1901).
- Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'Environnement (UMR 7564, Université de Lorraine, Nancy).
- Laboratoire de Chimie et Physique des milieux complexes (Université de Lorraine, Metz).
- Spéciales GILLARDEAU (entreprise conchylicole).
- Pôle de compétitivité AQUIMER (Boulogne sur mer).

#### **7.2.3. Collaboration industrielle avec la société bioMérieux**

Cette collaboration entre le CNRVE et bioMérieux a abouti à la mise sur le marché d'un kit de détection rapide 3 en 1 des rotavirus, des adénovirus et des norovirus. Ce kit a été mis sur le

marché le 28 novembre 2016 (<http://www.biomerieux-diagnostics.com/bionexia-noro-rotadeno-rapid-test> ).

La collaboration continue, elle consiste en l'évaluation et la modification éventuelle du kit en fonction de l'émergence de nouvelle souche comme par exemple celle des norovirus GII.17.

#### **7.2.4. 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) a été soutenu par la Région Bourgogne. Dès janvier 2016, notre équipe a été intégrée dans **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'activité pour les années suivantes

Ce programme d'activité se réalisera dans le cadre du nouveau mandat du CNR des virus des gastro-entérites dont le responsable est le Dr Alexis de Rougemont.

### 8.1. Activités d'expertise

#### 8.1.1. Evaluation de trousse de diagnostic

- **Diagnostic des norovirus :**

Nous poursuivons notre **évaluation des nouvelles trousse de diagnostic par immunochromatographie**. Les évaluations que nous pratiquons montrent une amélioration de la sensibilité, néanmoins les firmes poursuivent le développement et l'amélioration de ces trousse car la sensibilité n'est pas encore satisfaisante.

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 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 de techniques:

- **Transferts technologiques et développement du NGS :**

Fort de nos collaborations, notamment avec Eric Delwart (Université de Californie à San Francisco), nous avons entrepris une démarche de développement du **séquençage haut débit (Next Génération Sequencing)** pour la détection des virus entériques dans les selles à l'aide de la technologie Illumina sur MiSeq®. Nos tests préliminaires se sont portés sur notre capacité à détecter et séquencer les génomes de norovirus et de rotavirus issus de notre biobanque. À terme, nous prévoyons la possibilité de d'amplifier les génomes de la majorité des virus entériques à génome ARN.

- **Amélioration des techniques de quantification des virus entériques dans les selles :**

Ces techniques quantitatives s'appuient sur l'utilisation de gammes ARN des virus cibles afin d'en déterminer la charge dans les selles. Les premiers essais sont en cours de validation.

- **Développement de l'étude des constellations de gènes de rotavirus :**

Cette technique actuellement en notre possession permet d'étudier l'ensemble des 11 gènes de rotavirus et de mettre en évidence des recombinaisons. Cette approche est importante lorsqu'il s'agit de comparer un rotavirus à une souche vaccinale lors de gastro-entérites aiguës post-vaccinales.

- **Détection de nouveaux virus impliqués ou suspectés dans les gastro-entérites humaines:**

Notre attention se porte notamment sur de nouveaux astrovirus recombinants appartenant aux clades MLB et VA, et qui pourraient représenter près d'un quart des gastro-entérites à astrovirus chez l'homme. Ces virus sont également pourvoyeurs d'infections neurologiques sévères lors de complications. Néanmoins d'autres virus, plus exotiques, peuvent être impliqués dans les GEA : deux nouveaux genres de *Pirconaviridae* : les cosavirus et les salivirus,

et un nouveau *Protoparvoviridae*, le bufavirus. Nous possédons déjà une certaine expérience dans la détection de ces virus.

### 8.1.3. Mode de constitution, de stockage et mise à disposition des collections :

- **Constitution et stockage :**

- Notre collection comprend des souches virales pour les virus cultivant sur cellules, des échantillons de selle comprenant des virus caractérisés, des gènes clonés et des pseudo-particules virales (VLP), des hybridomes et les anticorps monoclonaux. Cette collection constituée depuis 2002 comprend l'ensemble des virus responsables de gastro-entérites connus et la plupart des génotypes de ceux-ci.
- Cette collection est anonyme pour ce qui concerne les échantillons de selle.
- Cette collection est conservée dans le Centre de Ressources Biologiques (CRB) Ferdinand-Cabanne ([www.crbferdinandcabanne.fr](http://www.crbferdinandcabanne.fr)) dont le numéro d'accréditation est BB-0033-00044. Une petite partie, nécessaire pour notre activité quotidienne, est conservée en miroir sous forme d'aliquots dans les enceintes froides à -40°C.

- **Mise à disposition des collections :**

- Les souches caractérisées, les VLP et les anticorps conservés dans notre CNR et le CRB « Ferdinand Cabannes » du CHU de Dijon.
- Tous les produits ou souches d'intérêt pour le diagnostic biologique de routine des gastro-entérites virales sont disponibles gratuitement pour les laboratoires d'analyses médicales y compris les laboratoires privés.
- Tous les produits ou souches d'intérêt scientifique sont disponibles gratuitement pour les laboratoires de recherche académique selon les conditions habituelles, c'est-à-dire après signature d'un « Material Transfert Agreement » entre notre établissement et les demandeurs.
- Tous les produits ou souches d'intérêt de notre collection seront disponibles pour les sociétés privées dans le cadre d'un contrat entre notre établissement et ces sociétés.
- Toutes les séquences génomiques virales d'intérêt sont partagées avec nos collègues des réseaux « Noronet » et « EuroRotaNet ». Certaines de ces séquences sont incluses dans des banques de données accessibles à tous comme GenBank.

### 8.1.4. Travaux d'évaluation de techniques :

- **Collaborations industrielles :**

Durant le précédent contrat, nous avons établi des relations privilégiées avec les industriels fabriquant les réactifs de diagnostic des virus responsables de gastro-entérites, principalement BioMérieux et Coris Bioconcept mais également R-Biopharm, Operon, Diasorin, Diagenode, Certest Biotc et Mobidiag. Ces laboratoires nous demandent d'évaluer leurs nouveaux réactifs ou leurs réactifs ayant été modifiés. Notre collection complète tant pour les norovirus et les rotavirus que pour les virus plus rares nous permet d'évaluer les réactifs vis-à-vis de tous les génotypes de ces virus et de disposer d'un échantillon représentatif des virus circulant dans les différentes classes d'âge de la population. Ces éléments associés à une standardisation de nos évaluations représentera un atout pour de futures évaluations ou collaborations avec ces industriels.

- **Évaluations futures :**

- Nous poursuivrons les évaluations des nouveaux réactifs de diagnostic comme précédemment. Ces évaluations régulières nous permettent de **conseiller nos collègues biologistes dans leur choix lors des appels d'offre.**

- **Une nouvelle approche de diagnostic, dite « syndromique »** retiendra particulièrement notre attention. Nous avons déjà évalué cette technique (réactif Biofire de BioMérieux) mais d'autres réactifs

sont ou seront prochainement sur le marché. Outre l'évaluation des performances de ces réactifs, il nous conviendra d'en définir l'utilisation. En effet, le coût élevé de ces tests, environ 140 euros par analyse, obligera les biologistes à en cibler les indications. Outre les caractéristiques virologiques des virus des échantillons, nos panels d'évaluation tiendront compte des caractéristiques cliniques et épidémiologiques (patients immunodéprimés, enfants, personnes âgées en institution, etc.).

#### **8.1.5. Projets de transferts de techniques vers d'autres laboratoires:**

- Des réactifs pour le diagnostic des norovirus et des rotavirus sont commercialisés, les demandes de transfert de techniques de diagnostic pour ces virus se posent donc rarement.
- Néanmoins, **nos procédures sont disponibles** et nous assurerons un **soutien technique à distance**. Ces processus sont principalement adaptés au virus moins fréquent comme les virus Aichi et les Sapovirus.
- La demande la plus fréquente provenant des laboratoires est la **fourniture de témoins positifs**. Nous disposons à cet effet d'un stock d'échantillons de selle dont le virus est parfaitement caractérisé.
- En collaboration avec l'ANSM nous avons élaboré un contrôle externe des tests rapides par immunochromatographie des rotavirus. L'ANSM s'était chargée de la distribution de ces préparations aux laboratoires participant à l'évaluation de leur technique. A la demande de cette Agence, nous serions en mesure de préparer de nouveaux ce contrôle externe pour les rotavirus. Nous avons également développé une collection d'antigènes synthétiques sous forme de VLP correspondant aux principaux génotypes, dont les derniers variants. Ces VLP pourraient être utilisées comme contrôle externe dans les tests de détection des norovirus par immunochromatographie.

#### **8.1.6. Recherche liées avec les missions du CNR des virus des gastro-entérites:**

- **Poursuite de la surveillance des souches de rotavirus du groupe A** et de leur dérive antigénique dans un contexte vaccinal chez l'enfant grâce à l'extension du Réseau National Rotavirus vers le Sud et l'Ouest de la France. En particulier, nous nous intéresserons à l'émergence de nouveaux génotypes ainsi qu'à l'impact de la vaccination sur la sélection préférentielle de souches de rotavirus. Nous poursuivrons également l'étude de la relation entre HBGA (antigènes tissulaires de groupes sanguins) et rotavirus, et pour laquelle nous avons acquis une solide expérience au CNR.
- **Surveillance des souches de norovirus épidémiques** et l'émergence de nouveaux variants/génotypes dans la population. Nous nous intéresserons tout particulièrement à l'évolution du nouveau norovirus GII.17 aussi bien sur le plan antigénique qu'épidémiologique. Nous évaluerons la capacité épidémique de ses nouvelles souches et leur fixation aux HBGA (antigènes tissulaires de groupes sanguins), ligands naturels des norovirus.
- **Évaluation de la circulation et de la prévalence des infections aux nouveaux astrovirus recombinants MLB et VA** dans la population pédiatrique française. D'après la littérature, ces virus représenteraient près de 25% des cas de gastro-entérites à astrovirus chez l'homme. Ces virus, issus d'une recombinaison entre astrovirus humains et animaux, auraient également un tropisme neurologique, en particulier la souche MLB1.
- **Évaluation de la circulation de nouveaux virus « exotiques »** : une étude en cours au CNR vise à mettre en évidence la présence de nouveaux virus : les cosavirus, les salivirus et les bufavirus chez les enfants de moins de 5 ans présentant une diarrhée aiguë nécessitant une consultation aux urgences du CHU.
- **Étude des GEA virales chez des patients souffrant d'une pathologie intestinale grave** : ce projet en cours de réalisation consiste à étudier l'impact des virus entériques chez les personnes souffrant de cancer de l'intestin ou de maladie inflammatoire chronique telles que la maladie de Crohn ou les rectocolites hémorragiques (RCH). Cette étude comporte un volet

clinique visant à étudier l'impact des virus entériques chez les patients et un volet anatomopathologique sur des biopsies intestinales permettant d'établir un lien éventuel entre la présence des HBGA et un risque accru d'infection chez ces patients.

- **Étude du microbiote intestinal chez les personnes âgées ayant présenté une GEA à norovirus** : les objectifs sont de déterminer les éléments du microbiote qui pourraient prédire la survenue et/ou la sévérité d'une infection à norovirus et d'évaluer les conséquences GEA symptomatiques à norovirus sur la composition du microbiote intestinal. Cette étude sera menée avec les unités de gériatrie du CHU de Dijon et du CH de Rouffac (Haut-Rhin). Deux selles diarrhéiques prélevées à 15 jours d'intervalle seront analysées à la recherche des virus entériques par qRT-PCR au CNR et la biodiversité du microbiote sera analysée par l'équipe de génomique INRA de Jouy-en-Josas.

#### 🏠Thématiques de l'activité de recherche fondamentale au CNR :

- *études des interactions virus-hôte et virus-environnement chez norovirus et rotavirus*
- *études des interactomes protéine-protéine chez norovirus et sapovirus*
- *étude de la réponse immune au rotavirus, mécanismes de protection, « adressage » des lymphocytes B selon la voie d'immunisation*

## 8.2. Activités 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.

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 poursuivrons 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 à 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 SPF via nos contacts.

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

## **8.4. Activité d'information, formation et conseil.**

### **8.4.1. Modalités de diffusion de l'information**

- **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](http://www.cnr-ve.org) . Il est aujourd'hui complètement sous notre responsabilité et son actualisation pris en charge par le CNR.

- **Colloques et réunions scientifiques**

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

### **8.4.2. Collaboration et expertises auprès d'instances nationales ou internationales**

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

Comme par le passé, le CNR des virus des gastro-entérites 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 et des publications didactiques sont également envisagés.