



RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITÉ 2023

Année d'exercice 2022

CNR Virus des gastro-entérites

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire CNR	CHU DIJON BOURGOGNE	Pr. Alexis de ROUGEMONT

Table des matières

Résumé analytique / Executive summary	5
1. Missions et organisation du CNR	6
Organigramme	6
Démarche Qualité	6
2. Activités d'expertise	7
2.1 Evolution des techniques	7
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	7
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	7
2.4 Collections de matériel biologique	7
2.5 Activités d'expertises	8
2.5.1 Investigations virologiques des épidémies de cas groupés	8
2.5.1.1 Données épidémiologiques	8
2.5.1.2 Principales souches virales caractérisées	9
2.5.1.3 Conclusions sur les virus entériques caractérisés	11
2.5.2 Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal	11
2.5.3 Investigations virologiques de cas sporadiques	11
2.5.3.1 Surveillance de patients immunodéprimés (Figure 1)	11
2.5.3.2 Diagnostic de cas sporadiques de diarrhées aiguës (Figure 2)	13
2.5.4 Délai de restitution des résultats	14
2.5.5 Recherche de SARS-CoV-2 dans les selles	14
2.6 Activités de séquençage	15
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	15
3. Activités de surveillance	17
3.1 Description du réseau de partenaires	17
3.1.1 Réseau de surveillance des cas groupés de gastro-entérites	17
3.1.1.1 Réseaux de surveillance	17
3.1.1.2 Provenance des échantillons (Figure 5)	18
3.1.2 Réseau de surveillance des gastro-entérites à rotavirus	19
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	19
3.2.1 Caractéristiques épidémiologiques des cas groupés	19
3.2.1.1 Aspect saisonnier des épidémies	19
3.2.1.2 Sites et modes de transmission	20
3.2.2 Caractéristiques virologiques des épidémies de gastro-entérites à rotavirus en France : bilan de la surveillance de la saison 2021-2022	23
3.2.2.1 Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus	23
3.2.2.2 Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P	24
3.2.2.3 Analyse de la répartition des génotypes G ou P	25
3.2.2.4 Variations temporelles des combinaisons de génotypes G/P	27
3.2.2.5 Conclusions	29
3.3 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	30

3.3.1 Réseaux internationaux <i>NoroNet</i> et <i>EuroRotaNet</i>	30
3.3.2 Relations avec les pays du Sud	30
4. Alertes	31
4.1 Contact hebdomadaire avec Sante Publique France (SPF)	31
4.2 Procédures d'alerte de SPF et des autres partenaires	31
4.3 Description de l'infrastructure informatique	31
4.3.1 Transmission des données à SPF Voozanoo	31
4.3.2 Anonymisation des prélèvements	31
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	32
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	32
5.1.1 Site internet : www.cnr-ve.org	32
5.1.2 Activité de formation	32
5.1.3 Activité de conseil aux professionnels de santé	32
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	32
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	33
6.1 Activités de recherche	33
6.1.1 Travaux en cours d'étude	33
6.1.2 Travaux en cours de finalisation	33
6.1.3 Travaux publiés	35
6.2 Liste des publications et communications	38
6.2.1 Publications internationales	38
6.2.2 Communications internationales	38
6.2.3 Ouvrages didactiques	38
7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	39
7.1 Coopérations structurelles dans le cadre de nos activités de surveillance et d'alerte	39
7.2 Coopérations dans le cadre de projets de recherche	39
7.2.1 Coopérations universitaires	39
7.2.2 Projets divers	39
7.2.3 Collaborations avec l'INRA	40
7.2.4 Conclusion sur nos coopérations	40
8. Programme d'activité pour les années suivantes	41
8.1 Activités d'expertise	41
8.1.1 Réseaux de partenaires et collaborations	41
8.1.2 Développement de techniques	41
8.1.3 Mode de constitution, de stockage et mise à disposition des collections	41
8.1.4 Travaux d'évaluation de techniques	42
8.1.5 Projets de transferts de techniques vers d'autres laboratoires	42
8.1.6 Travaux de recherche en lien avec les missions du CNR des virus des gastro-entérites	42
8.1.6.1 Recherches et surveillances épidémiologiques des virus entériques	42
8.1.6.2 Recherches fondamentales sur les virus des gastro-entérites	43

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	44
1.1 Missions du CNR	44
1.1.1 Missions principales du CNR Virus des gastro-entérites	44
1.1.2 Objectifs spécifiques du CNR Virus des gastro-entérites	44
1.2 Organisation du CNR	46
1.2.1 Organigramme du CNR Virus des gastro-entérites	46
1.2.2 Fiche d'identité du CNRvge	47
1.2.3 L'équipe du CNRvge (2022-23)	47
1.3 Locaux et équipements	48
1.3.1 Locaux	48
1.3.2 Équipements	49
1.4 Collections de matériels biologiques	50
1.4.1 Descriptions des collections	50
1.4.2 Conditions de stockage	51
1.4.3 Conditions de stockage	51
1.5 Démarche qualité du laboratoire	51
1.5.1 Accréditation COFRAC	51
1.5.2 Contrôle de qualité interne	52
1.5.3 Contrôle de qualité externe européen	52
1.5.4 Métrologie et maintenance des automates	52
1.5.5 Centre de ressources biologiques	52
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	53
2.1 Capacités techniques	53
2.2 Liste des techniques de référence	53
2.2.1 Principales procédures techniques disponibles	53
2.2.2 Transfert des techniques à d'autres laboratoires	54
2.3 Techniques de référence	54
2.3.1 Techniques PCR en temps réel (RT-qPCR/qPCR)	54
2.3.2 Techniques PCR de typage (RT-PCR/PCR)	55
3. Annexe 3 : Autres informations	56
3.1 Permanence du CNR	56
3.2 Autorisations MOT	56
3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale	56
3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo	56
3.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année 2022, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France	56
3.6 Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR	56
3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR	56

Résumé analytique

Faits marquants

Le **CNR virus des gastro-entérites (CNRvge)** est hébergé au sein du Laboratoire de Virologie du CHU Dijon Bourgogne et dirigé par le Pr. Alexis de ROUGEMONT. Ses activités de diagnostic et de recherche reposent sur 4 biologistes médicaux, 2 ingénieurs hospitaliers, 6 techniciens et 1 secrétaire.

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

Dans ce contexte, le CNRvge a concentré ses actions autour des 3 principaux axes suivants (**bilan 2022**) :

- **activités d'expertise** où le CNRvge apporte son aide dans le diagnostic de cas, parfois complexes, le suivi des patients fragiles et l'approche thérapeutique des cliniciens : investigations virologiques chez **234 patients immunodéprimés** (23,3% de positifs, dont 34 norovirus) ; expertises virologiques de **646 cas sporadiques** (52,7% de positifs, dont 141 norovirus, 34 rotavirus et 99 adénovirus) ; bilan virologique de **795 échantillons avant transplantation de microbiote fécal (TMF)** (3,0% de positifs, dont 8 entérovirus) ; et recherche du **SARS-CoV-2 dans 768 selles** (7,0% de positifs).

- **gastro-entérites infantiles à rotavirus** pour lesquelles le CNRvge réalise une surveillance moléculaire continue afin d'apprécier l'impact de la vaccination sur l'évolution ou l'émergence des génotypes du rotavirus : **analyse de 760 prélèvements** dans lesquels sont retrouvés une **prépondérance de G3P[8] et G3eP[8]** (51,5%), suivis des **G9P[8]** (23,1%) et **G12P[8]** (12,1%), et un très faible circulation des **G1P[8]** (6,4%) et des **G2P[4]** (2,9%).

- **gastro-entérites épidémiques en EHPAD ou cas groupés de gastro-entérites** investigués en collaboration avec SPF, les CIRE, les ARS, les EHPAD et les LABM : investigations virologiques de **99 épidémies (310 prélèvements)**, survenues tout au long de l'année avec un pic entre novembre et mars, dont 77,8% sont positives à un virus (71 norovirus dont des **GII.4 Sydney[P16]**, et 23 autres virus entériques) ; 63 (63,6%) épidémies en EHPAD ou dans des hôpitaux ; transmission le plus fréquemment de **personne-à-personne** (43,4%) mais d'origine inconnue dans près d'un tiers des épidémies.

Executive summary

Highlights

The NRC for gastroenteritis viruses (NRCgev) is located in the Virology Laboratory of the University Hospital of Dijon Bourgogne and directed by Pr. Alexis de ROUGEMONT. Its diagnostic and research activities rely on 4 medical biologists, 2 hospital engineers, 6 technicians and 1 secretary.

*The NRCgev has **missions of expertise, advice, monitoring and alert in connection with Santé Publique France (SPF)** in the field of viral gastroenteritis. In France as in Europe, viral gastroenteritis poses mainly a problem of morbidity, but which is polymorphic because two viruses are the main agents: rotaviruses and noroviruses. Three groups of patients are mainly concerned: children for rotavirus, elderly people living in communities for norovirus, and finally the immunocompromised. These infections occur regularly in winter or by sudden food- or waterborne outbreaks (clusters).*

In this context, the NRCgev has focused its actions around the following 3 main axes (2022 report):

- **expertise activities** where the NRCgev provides assistance in the diagnosis of sometimes complex cases, the follow-up of fragile patients and the therapeutic approach of clinicians: virological investigations in **234 immunocompromised patients** (23.3% positive, including 34 norovirus) ; virological expertise of **646 sporadic cases** (52.7% positive, including 141 norovirus, 34 rotavirus and 99 adenovirus); virological assessment of **795 samples before fecal microbiota transplantation (FMT)** (3.0% positive, including 8 enteroviruses); and search for **SARS-CoV-2 in 768 stools** (7.0% positive).

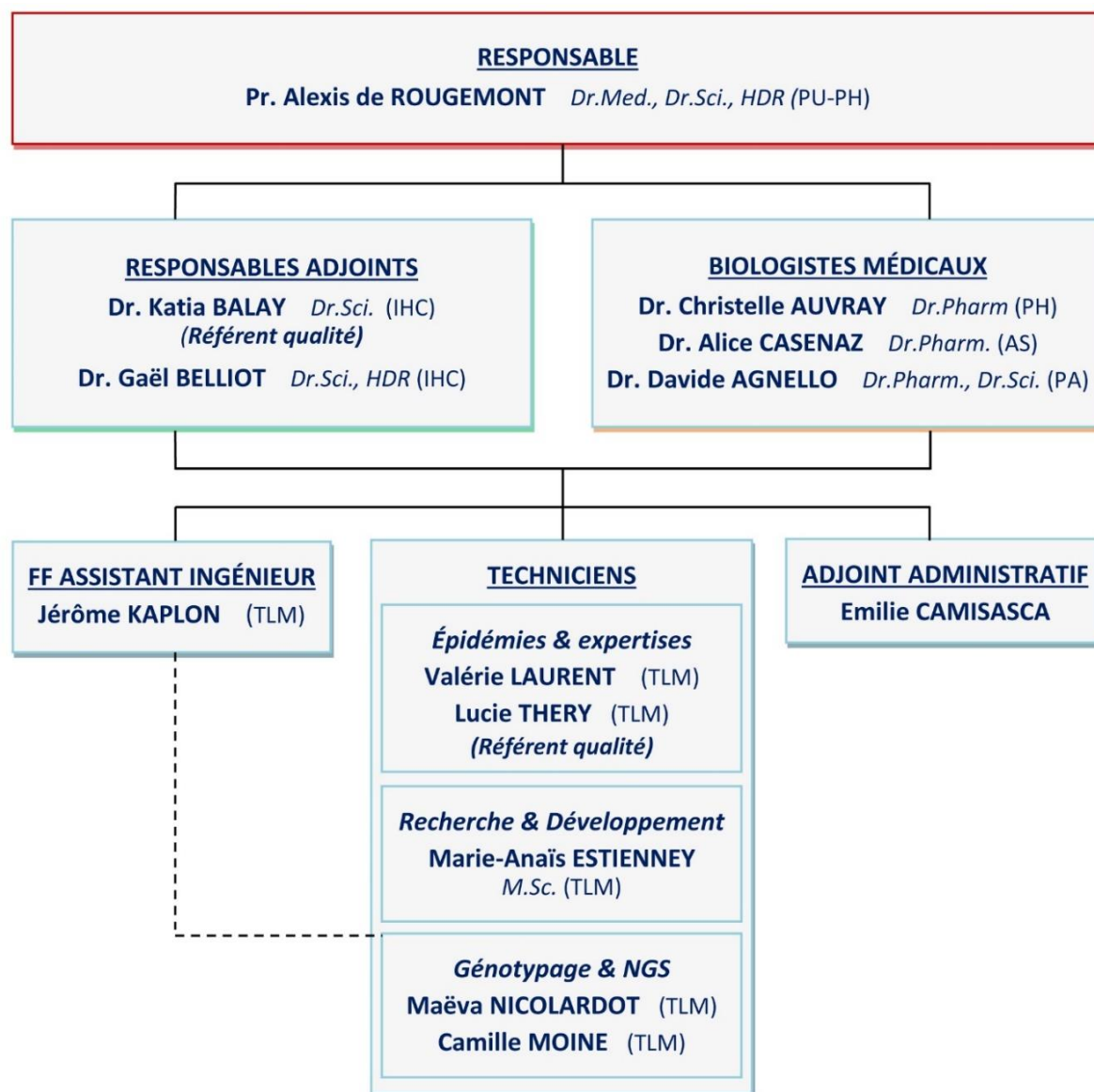
- **infantile rotavirus gastroenteritis** for which the NRCgev carry out continuous molecular monitoring in order to assess the impact of vaccination on the evolution or emergence of rotavirus genotypes: **analysis of 760 samples** in which a **preponderance of G3P[8] and G3eP[8]** (51.5%) is found, followed by **G9P[8]** (23.1%) and **G12P[8]** (12.1%), and very low circulation of **G1P[8]** (6.4%) and **G2P[4]** (2.9%).

- **gastroenteritis outbreaks in nursing home or clusters** investigated in collaboration with SPF, the Regional Intervention Cells (CIRE), the Regional Health Agency (ARS), nursing homes and private laboratories: virological investigations of **99 epidemics (310 samples)**, occurring throughout the year with a peak between November and March, of which 77.8% are positive for a virus (71 noroviruses including **GII.4 Sydney[P16]**, and 23 other enteric viruses); 63 (63.6%) outbreaks in nursing homes or in hospitals; most frequently **person-to-person** transmission (43.4%) but the origin is unknown in around a third of outbreaks.

1. Missions et organisation du CNR

Les missions et l'organisation du CNR des virus des gastro-entérites sont détaillées dans l'**annexe 1**. Elles ont été définies dans le cahier des charges spécifiques du CNR paru en 2022 pour la période 2023-2027. Aucune modification n'est intervenue à ce niveau en 2022.

Organigramme



Démarche Qualité

Le laboratoire de Biologie et Pathologie du CHU Dijon Bourgogne, dont fait partie le CNR des virus des gastro-entérites, est accrédité selon la norme NF EN ISO 1589 V2012 (n°8-3125). Le CNR virus des gastro-entérites, à l'instar de la fédération de microbiologie, est accrédité COFRAC pour toute la filière de biologie moléculaire du pré- au post-PCR. La détection des norovirus dans les selles a été accréditée en octobre 2016. L'accréditation est toujours en attente d'extension depuis 2019 et de la visite du COFRAC en virologie moléculaire.

2. Activités d'expertise

Éléments clefs de l'activité d'expertise du CNRvge en 2022 :

- **délai moyen de rendu des résultats de 3,1 jours**
- **expertises virologiques de 99 épidémies de cas groupés** : 71 souches de norovirus dont 93,0% de GII (54,9% de GII.4, majoritairement des GII.4 SydneyP[16]) et 7,0% de GI.
- **investigations virologiques chez 234 patients immunodéprimés** : 23,3% de patients positifs et prépondérance des norovirus (34 souches).
- **expertises virologiques de 646 cas sporadiques** : 52,7% de patients positifs et prépondérance des norovirus (141 souches ; 91,5% de GII), rotavirus (34 souches), adénovirus (99 souches dont 62,6% AdV-F)
- **bilan virologique de 28 selles pour transplantation de microbiote fécal** et 767 selles dans un cadre contractuel ou de partenariat.
- **recherche systématique du coronavirus SARS-CoV-2 dans les selles** (selon DPS de l'ANSM) : 768 selles investiguées dont 54 positifs (7,0%).

2.1 Evolution des techniques

Outre la détection par PCR en temps réel (RT-qPCR) des astrovirus MLB et VA et des hépatites A et E dans les selles et autres prélèvements, nous sommes en cours de développement des techniques de RT-qPCR pour la détection des cosavirus et salivirus (*Picornaviridae*) et des bufavirus/tusavirus (*Parvoviridae*). Le développement se poursuit progressivement pour les techniques de séquençage haut-débit (NGS) pour la détection des virus entériques ARN dans les selles sur plate-forme Illumina.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Au cours de l'année 2022, nous n'avons pas procédé à l'évaluation de nouvelles trousse. En revanche, le CNRvge a procédé à la mise en place d'EEQ norovirus pour la certification COFRAC des procédés de détection dans les laboratoires de biologie médicale publiques et privés.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Des réactifs pour le diagnostic des norovirus et des rotavirus sont désormais largement commercialisés. De ce fait, la demande de transfert de techniques se pose rarement. Pour répondre à la demande des laboratoires, les procédures de référence pour la détection virale par qPCR/RT-qPCR sont disponibles sur le site internet (www.cnr-ve.org). Nous assurons un soutien technique à distance si nécessaire.

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 fèces dont le virus est parfaitement caractérisé. Cette fourniture se formalise par la mise en place d'EEQ norovirus et rotavirus pour la certification COFRAC des procédés de détection dans les laboratoires de biologie médicale publiques et privés sous la forme d'un abonnement (environ 40 laboratoires).

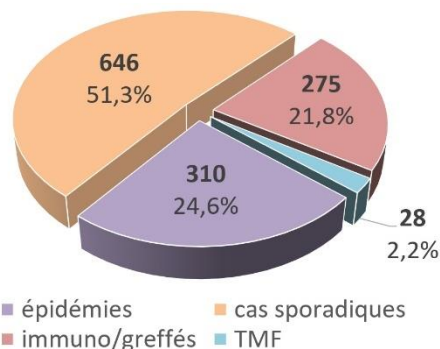
2.4 Collections de matériel biologique

Nos collections de selles sont référencées au Centre de Ressources Biologiques (CRB) Ferdinand-Cabanne du CHU de Dijon dans la section « microbiologie » en 4 collections distinctes : « rotavirus », « norovirus », « autres virus » et « selles négatives ». Une filière spécifique a été mise en place pour le traitement et l'archivage des selles au CRB avec l'acquisition d'un nouveau PSM dédié. La filière est certifiée.

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

2.5 Activités d'expertises

Au total, **1259 échantillons** provenant d'épidémies groupées (24,6%), de patients immunodéprimés/greffés (21,8%), de cas sporadiques (51,3%) ou d'expertises spécifiques (2,2%) ont été analysés par le CNR en 2022, auxquels peuvent être ajoutés 767 prélèvements pour qualification du don dans le cadre de la TMF.



2.5.1 Investigations virologiques des épidémies de cas groupés

2.5.1.1 Données épidémiologiques

Dans la quasi-totalité des épidémies, l'alerte a été effectuée directement ou indirectement via SPF, les CIRE ou les délégations territoriales des ARS concernées. Les prélèvements ont été transmis par des laboratoires publics ou privés, ou directement par l'établissement concerné par l'épidémie. L'acheminement a été effectué par voie postale dans la plupart des cas ou, lorsque le nombre de prélèvements le justifiait, par un transporteur agréé (p. ex. la société TSE à Lyon).

En 2022, nous avons expertisé **99 épidémies dont 77 étaient positives** pour au moins un virus entérique soit **77,8%** (pour 89,6% d'entre elles, un norovirus était retrouvé seul ou associé à un autre virus) (Tableau 2). Si on analyse **les 22 épidémies « négatives » (22,2%)**, on constate que pour 7 (31,8%) et 5 (22,7%) d'entre elles nous n'avons qu'un ou deux prélèvements, respectivement (soit dans plus d'un cas sur deux). Or, l'observation des données montre qu'en disposant de **3 à 4 prélèvements par épidémie nous pouvions prouver l'étiologie d'une épidémie quand elle est virale** (Tableau 3).

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

Au total en 2022, 310 échantillons ont été analysés, soit une moyenne de 3,1 $\pm$ 2,5 échantillons et une médiane de 3 échantillons par épidémie :

- **77 épidémies « positives » comprenant : 251 prélèvements analysés**, soit une moyenne de 3,3 $\pm$ 2,6 échantillons et une médiane de 3 échantillons analysés par épidémie, dont **208 positifs**, soit une moyenne de 2,7 $\pm$ 2,4 positifs et une médiane de 2 positifs par épidémie,
- **22 épidémies « négatives » comprenant 59 prélèvements analysés**, soit une moyenne de 2,7 $\pm$ 1,7 échantillons et une médiane de 2 échantillons analysés / épidémie.
- **rapport (échantillons positifs / analysés) : 67,1%** des échantillons analysés contenaient au moins 1 virus, et 82,9% des échantillons issus des épidémies « positives » contenaient au moins 1 virus.

Tableau 2 : Tableau annuel comparatif des prélèvements analysés entre 2017 et 2022

épidémies			infections	virus								étiologie inconnue
				NoV	SaV	RVA	AdV	AstV	AiV	EV	autres	
Mandat 2017-2022	2017	237	mono : 173 mixtes : 6	155 6	3 3	12 3	2 0	1 1	0 0	0 0	- -	58 (24,5%)
	2018	184	mono : 135 mixtes : 10	119 8	8 7	7 3	1 2	0 2	0 2	0 0	- -	39 (21,2%)
	2019	214	mono : 157 mixtes : 13	144 13	2 8	6 2	4 2	1 0	0 2	0 5	- -	44 (20,6%)
	2020	112	mono : 74 mixtes : 8	70 7	0 3	3 1	0 3	0 0	0 0	1 3	- -	30 (26,8%)
	2021	119	mono : 81 mixtes : 11	72 10	0 4	3 2	3 6	2 0	0 0	0 0	1* 2*	27 (22,7%)
	2022	99	mono : 68 mixtes : 9	61 8	0 2	2 3	2 3	2 2	0 1	0 0	1* 3*	22 (22,2%)

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

Pour 48 des 77 épidémies « positives », le nombre de prélèvements positifs correspondait exactement au nombre de prélèvements reçus au CNR. Cette proportion est globalement plus élevée de celle observée les quatre années précédentes avec 62,3% d'adéquation contre 53,2% (2021), 52,4% (2020), 47,7% (2019), 49,0% (2018) et 50,3% (2017), et supérieure à la moyenne de l'ensemble de la période 2012-2021 (50,8%).

Tableau 3 : Distribution des épidémies selon le nombre de prélèvements analysés et le nombre de prélèvements positifs

2021		Nombre de prélèvements analysés										Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	10	19	
Nombre de prélèvements positifs	0	7	5	3	4	2		1				22
	1	17	5	1		1						24
	2		14	8	1	1						24
	3			6	1	2	1					10
	4				8	3	1	1				13
	5					0						0
	6						2					2
	7							0	1			1
	8								1			1
	9									1		1
	18										1	1
Total		24	24	18	14	9	4	2	2	1	1	99

2.5.1.2 Principales souches virales caractérisées

Les norovirus (Tableau 4)

- 71 souches de norovirus ont été caractérisées en 2022 dans 69 épidémies dont :
 - 5 souches de NoV-GI, soit 7,0% ; 66 souches de NoV-GII, soit 93,0%
 - pour comparaison, nous avons caractérisé 1755 souches dans 1591 épidémies dont 16,6% de NoV GI et 84,4% de NoV GII sur la période 2012-2021. Cette différence pourrait s'expliquer par le mode de transmission (hydrique, alimentaire ou de personne-à-personne).
- le génotype GII.4 représentait 54,9% des NoV avec 39 souches dont :
 - 25 souches GII.4 2012-Sydney[P16], NoV recombinant prédominant apparu en 2016,
 - 9 souches GII.4 2012-Sydney[P31], NoV recombinant apparu au début des années 2010,
 - 4 souches GII.4 2012-Sydney.
- le génotype GII.17[P17] poursuit sa circulation avec 14,1% des NoV détectés soit 10 souches contre 6,9% en 2021, 22,2% en 2020, 4,4% en 2019 et 2018, et 14,6% en 2017. Il s'agit du variant GII.17 Kawasaki-308 qui avait émergé en Europe en 2016 et était devenu temporairement le génotype principal de norovirus en France.
- les autres génotypes (22 souches) dont quelques recombinants (5 souches) associés aux génotypes GII.3, GII.6 et GII.16 ont circulé sur la période avec des fréquences similaires.
- les NoV GI ont été impliqués dans les épidémies avec une fréquence de 7,0% soit 5 souches représentant 3 génotypes différents de GI.2, GI.3 et GI.6 (sur les 9 appartenant au génogroupe I).

Les autres virus détectés en 2021 (23 souches) :

- rotavirus : 6 souches ont été caractérisées dans 5 épidémies : 2 souches G3P[8], 2 G3eP[8], 1 G9P[8] et 1 souche non typable.
- sapovirus : 2 souches ont été caractérisées dans 2 épidémies : une souche GI.1 et une souche GII.3.
- astrovirus : 4 souches dans 4 épidémies dont 1 souche type 1 et 3 souches de type 4.
- adénovirus : 5 souches dans 5 épidémies dont 1 type B, 2 type C et 2 non typables.
- Aichi virus : 1 souche non typable dans 1 épidémie.
- coronavirus : 4 souches de SARS-CoV-2 dans 4 épidémies.

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des souches de norovirus caractérisées de 2017 à 2022.

		2017			2018			2019			2020			2021			2022		
Norovirus		GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%
Génogroupe I (GI)	GI non typable	5		2,9%	4		2,5%	4		2,2%	1		1,1%	1		1,1%	1		1,4%
	GI.1	1		0,6%	12		7,5%	22		12,2%	7		7,8%	2		2,3%			
	GI.2	3		1,8%	5		3,1%	3		1,7%	6		6,7%				1		1,4%
	GI.3	5		2,9%	1		0,6%	10		5,5%	2		2,2%	1		1,1%	1		1,4%
	GI.3P[13]							2		1,1%							1		1,4%
	GI.4	2		1,2%	8		5,0%	2		1,1%	1		1,1%						
	GI.5				4		2,5%	2		1,1%									
	GI.5[P4]				1		0,6%												
	GI.6	1		0,6%	4		2,5%	2		1,1%	2		2,2%	2		2,3%	1		1,4%
	GI.6P[11]	1		0,6%	2		1,3%				1		1,1%						
	GI.7	1		0,6%	6		3,8%	1		0,6%									
	GI.8																		
	GI.9													1		1,1%			
Génogroupe II (GII)	GII non typable		13	7,6%		4	2,5%		6	3,3%		6	6,7%		6	6,9%		2	2,8%
	GII.1																		
	GII.1[P30]																1	1,4%	
	GII.2		6	3,5%		3	1,9%		2	1,1%					1	1,1%			
	GII.2[P16]		12	7,1%		16	10,0%		1	0,6%		1	1,1%		19	21,8%		2	2,8%
	GII.3								2	1,1%					2	2,3%		2	
	GII.3[P12]					1	0,6%								2	2,3%			
	GII.3[P16]					1	0,6%		2	1,1%									
	GII.3[P30]					2	1,3%		5	2,8%					1	1,1%		1	1,4%
	GII.4 Bristol		1	0,6%															
	GII.4 Yerseke		1	0,6%															
	GII.4 Den Haag								1	0,6%									
	GII.4 New Orleans					1	0,6%		1	0,6%									
	GII.4 Sydney [P4 Hunter]					3	1,9%					3	3,3%						
	GII.4 Sydney [P4 New Orleans]		24	14,1%		1	0,6%		2	1,1%		7	7,8%						
	GII.4 Sydney		13	7,6%		1	0,6%		5	2,8%		3	3,3%		7	8,0%		5	7,0%
	GII.4 Bristol[P16]					1	0,6%												
	GII.4 Sydney[P16]		52	20,6%		51	31,9%		67	37,0%		16	17,8%		25	28,7%		25	35,2%
	GII.4 Sydney[P21]					4	2,5%												
	GII.4 Sydney[P31]		3	1,8%		10	6,3%		6	3,3%		2	2,2%		8	9,2%		9	12,7%
	GII.5[P22]								1	0,6%									
	GII.6		2	1,2%		1	0,6%		4	2,2%		2	2,2%						
	GII.6[P7]					1	0,6%		11	6,1%		2	2,2%		1	1,1%		1	1,4%
	GII.7		2	1,2%					2	1,1%					1	1,1%		1	1,4%
	GII.7[P6]											2	2,2%						
	GII.8								4	2,2%		2	2,2%		1	1,1%			
	GII.10								1	0,6%		1	1,1%						
	GII.12																		
	GII.13					2	1,3%												
	GII.13[P16]								1	0,6%		1	1,1%						
	GII.13[P21]																		
	GII.14																1	1,4%	
	GII.15					2	1,3%												
	GII.16					1	0,6%											1	1,4%
	GII.16[PNA7]																2	2,8%	
	GII.17		22	12,9%		7	4,4%		8	4,4%		20	22,2%		6	6,9%		10	14,1%
	GII.20								1	0,6%									
	GII.22																		
	GIV.1																		
total		19	151		47	113		48	133		20	68		7	80		5	66	
%		11,2	88,8	170	29,4	70,6	160	26,5	73,5	181	22,7	77,3	88	8,0	92,0	87	7,0	93,0	71

2.5.1.3 Conclusions sur les virus entériques caractérisés

Comme à chaque saison, les norovirus sont présents dans la majorité (89,6%) des épidémies de cas groupés de gastro-entérites et représentent la majorité (75,5%) des virus isolés des selles analysées. Il s'agit essentiellement de norovirus du génogroupe II (93,0% des norovirus détectés et 70,2% des virus détectés).

Jusqu'ici les variants du génotype GII.4 étaient prédominants et se succédaient selon un cycle de 2 à 3 années. Depuis 2017, les variants recombinants prédominent, en particulier le GII.4 2012-SydneyP[16] qui a émergé en 2016 en France et qui représente 35,2% des souches de norovirus caractérisées. À noter, le génotype GII.4 2012-SydneyP[31] a vu sa circulation augmenter en 2022 avec 12,7% des épidémies de cas groupés.

Le génotype GII.17 Kawasaki-308, qui avait émergé au cours de l'hiver 2015-2016 avec presque 45% des souches de norovirus caractérisées, reste un des génotypes majeurs de norovirus responsable d'épidémies de cas groupés en 2022 avec 14,1%.

Au cours de l'année 2022, les norovirus GI ont été à nouveau très peu fréquemment impliqués dans les épidémies avec une fréquence de 7,0% contre 8,0% en 2021, 22,2% en 2020, 29,4% en 2019 (la moyenne étant de 17,2% au cours des 9 dernières années).

Il reste cependant nécessaire de garder à l'esprit que le nombre d'épidémies a été de nouveau réduit cette année compte-tenu du contexte sanitaire, de l'utilisation des masques et de gel hydroalcoolique systématique.

2.5.2 Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal

Depuis 2020, l'ANSM a restreint le recours à la transplantation de microbiote fécal (TMF) dans le contexte sanitaire COVID. **En 2022, nous avons analysés 28 échantillons de selles de divers CHU (APHP, Brest et Nantes) dans le cadre de TMF à visée thérapeutique. Seuls 3 dons du même donneur ont été disqualifiés suite à la détection d'entérovirus.**

Nous participons depuis 2014 à divers programmes de recherche sur les traitements à l'aide de la TMF, notamment avec l'équipe du Pr. Harry SOKOL de l'APHP (études REBALANCE/MIRACLE sur les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)) et de BIOFORTIS (Mérieux NutriSciences) via des accords-cadres. Dans ce cadre, **767 prélèvements de selles ont été analysés en 2022 pour qualification du don**, dont 21 échantillons (2,7%) ont été disqualifiés après détection de SARS-CoV-2 (11 échantillons) : entérovirus (5), norovirus (2), rotavirus (2) et adénovirus (1).

Notre expérience a été mise à disposition des autres laboratoires afin de favoriser l'accès à cette nouvelle thérapeutique.

2.5.3 Investigations virologiques de cas sporadiques

Au cours de l'année 2022, le CNR a procédé à l'analyse de 1042 prélèvements de selles issus de sujets immunodéprimés ou de cas de diarrhées sporadiques.

2.5.3.1 Surveillance de patients immunodéprimés (Figure 1)

Nous avons reçu **275 selles représentant le suivi de 234 patients**. Nous n'avons reçu un seul prélèvement pour 198 patients, 2 prélèvements pour 31 patients et 3 pour 5 patients. Au total, **64 (23,3%) selles** chez 56 (23,9%) patients **étaient positives** pour 1 virus (48 patients) ou 2 virus (8 patients). Par ordre de fréquence : **34 norovirus (29 patients)**, 11 adénovirus (11 patients), 8 sapovirus (7 patients), 3 rotavirus (3 patients), 3 astrovirus (3 patients), 2 entérovirus (2 patients), 1 bocavirus et 1 paréchovirus. À noter 28 SARS-CoV-2 (27 patients) ont été détectés.

Les souches virales caractérisées chez ces sujets immunodéprimés correspondaient à 83 souches dont :

- **norovirus : 34 souches (Tableau 5)**
 - 5 souches de NoV-GI, soit 14,7% des norovirus détectés,
 - **29 souches de NoV-GII**, soit 85,3% des norovirus détectés **dont 3 variants de souches GII.4 (44,8%)**.
- **adénovirus : 12 souches non entériques** (types A, C ou D).
- **sapovirus : 5 souches** dont 1 souches GI.2.
- **astrovirus : 8 souches de génotype 1**.
- **astrovirus MLB/VA : 1 souche** de génotype MLB-1.

Tableau 5. Détail des typages des 56 souches de norovirus détectés chez des immunodéprimés en 2021

	Souches de norovirus	nombre	Souches de norovirus	nombre
GI	GI.1	3	GI.3	1
			GI.7	1
Génogroupe II	GII non typables*	6	GII.4 Sydney	3
	GII.2	1	GII.4 Sydney[P16]	6
	GII.2[P16]	1	GII.4 Sydney[P31]	4
	GII.2[P21]	2	GII.6	2
	GII.3[P30]	2	GII.7	1

* charge virale trop faible

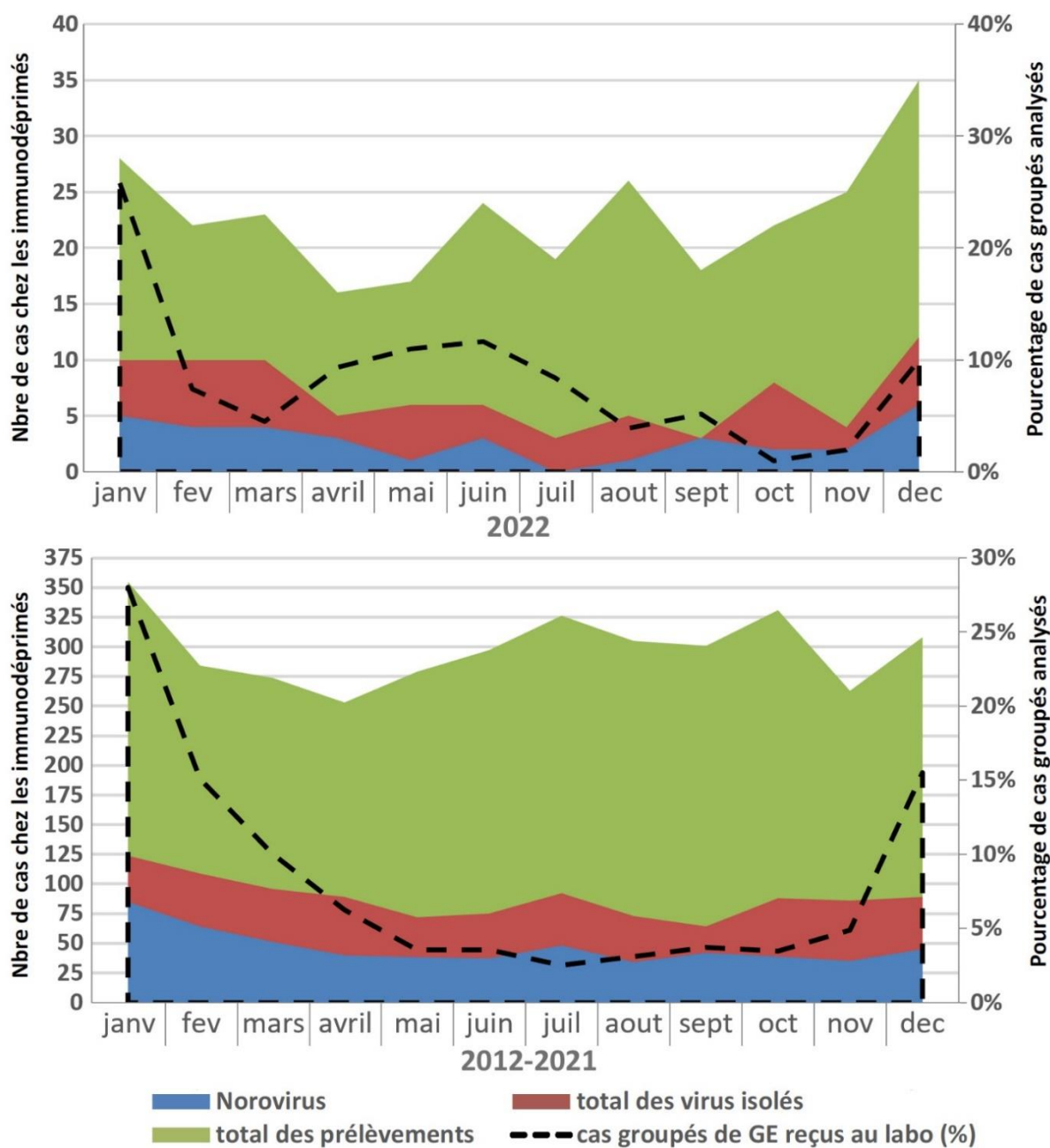


Figure 1 : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des patients immunodéprimés (1 prélèvement/patient) (a) 275 demandes entre janvier 2022 et décembre 2022 ; (b) 3611 demandes entre janvier 2012 et décembre 2021.

2.5.3.2 Diagnostic de cas sporadiques de diarrhées aiguës (Figure 2)

En 2022, nous avons analysés les selles de **598 patients (646 prélèvements)** souffrant de diarrhée aiguë et provenant de CHR, CHU ou LABM de toute la France. La moyenne d'âge était à 23,9 ans et la médiane à 3,1 ans [1 jours ; 99,5 ans]. En tout **315 (52,7%) patients étaient positifs** pour au moins 1 virus entérique dont 33 patients présentaient 2 virus dans les selles, 5 patients présentaient 3 virus, 1 patients présentait 4 virus et 1 patient présentait 6 virus.

En tout, 395 virus ont été détectés dont :

- **norovirus : 141 souches** (Tableau 6) : 12 souches de NoV-GI et **129 souches de NoV-GII**, soit 91,5% des norovirus détectés dont **3 variants de souches GII.4 (37,6%)**.
- **rotavirus : 59 souches** dont 32 G3P[8], 9 G9P[8], 6 G3eP[8], 3 G12P[8], 1 G1P[8] et 1 G2P[4].
- **adénovirus : 99 souches** dont 62 souches entériques (groupe F ; AdV-40/41) et 23 souches non entériques des groupes C (16), B (4) et Z (3).
- **sapovirus : 30 souches** dont 5 GI.1, 2 GI.2, 4 GII.1, 4 GII.3, 1 GII.4 et 3 GII.5.
- **entérovirus : 14 souches** dont 5 rhinovirus (A, B103, C17, C18, C28), 3 Coxsackie (A4, A10 et B4) et 2 échovirus (3 et 11).
- **paréchévirus : 4 souches** dont 1 PEV-1.
- **astrovirus : 9 souches** dont 3 hAstV-1 et 4 hAstV-4.
- **bocavirus : 2 souches**.
- **coronavirus : 23 souches SARS-CoV-2**.
- **CMV : 3 souches**.

Tableau 6. Détail des typages des norovirus détectés dans les cas sporadiques en 2022

	Souches de norovirus	nombre	Souches de norovirus	nombre
GI	GI non typables*	5	GI.3	3
	GI.1	1	GI.5	1
	GI.2	1	GI.7	1
GII	GII non typables*	14	GII.4 Sydney[P16]	19
	GII.1[P21]	1	GII.4 Sydney[P31]	10
	GII.2	1	GII.6	2
	GII.2[P16]	5	GII.7	5
	GII.3	23	GII.8	2
	GII.3[P12]	15	GII.13[P16]	1
	GII.3[P30]	2	GII.16[PNA7]	1
	GII.4 Sydney	24	GII.17	4

* charge virale trop faible

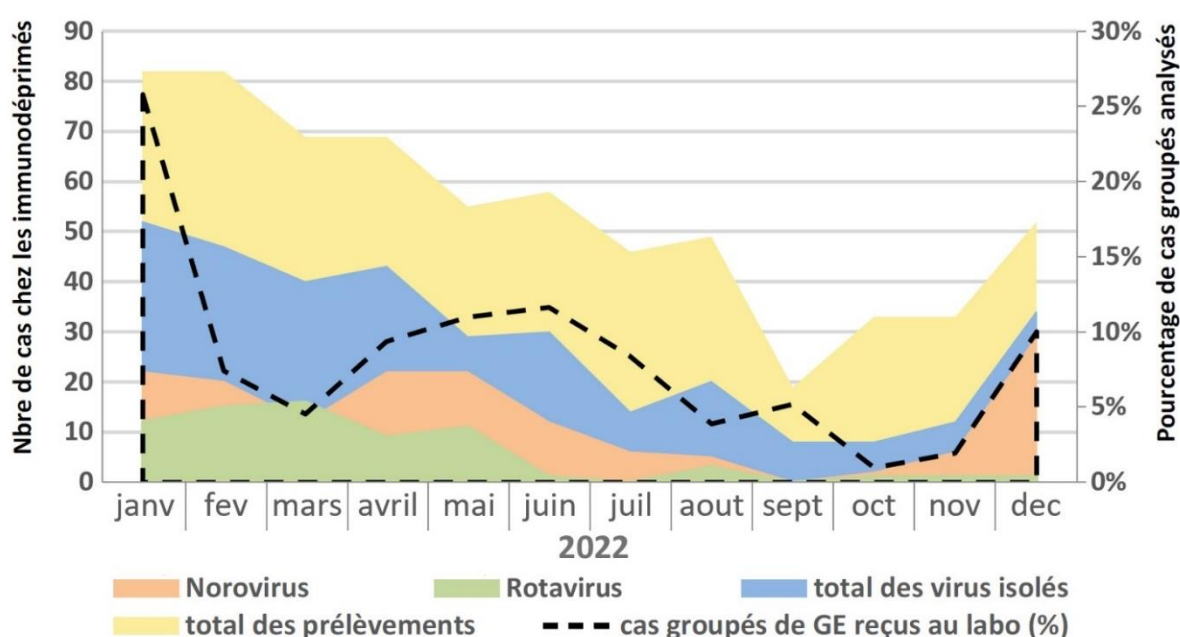


Figure 2 : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des 646 cas isolés analysés entre janvier 2022 et décembre 2022 (1 prélèvement/patient).

2.5.4 Délai de restitution des résultats

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

L'analyse « norovirus GI/GII » est majoritairement réalisée dans un délai inférieur à 7 jours avec un pic 1 et 2 jours, et une moyenne de 2,3, 2,5, 2,6, 2,8, 2,8 et 3,1 jours en 2017, 2018, 2019, 2020, 2021 et 2022, respectivement, avec des médianes de 2 à 3 jours (Figure 3).

Il est important de noter que les augmentations d'activité n'impactent que peu le délai de rendu des résultats pour la recherche de norovirus. Enfin, le délai de rendu d'un dossier complet (panel d'analyses allant jusqu'à 10 virus) au cours de l'année 2022 est de 4,2 jours avec une médiane à 4 jours la recherche systématique de SARS-CoV-2 dans toutes les selles reçues.

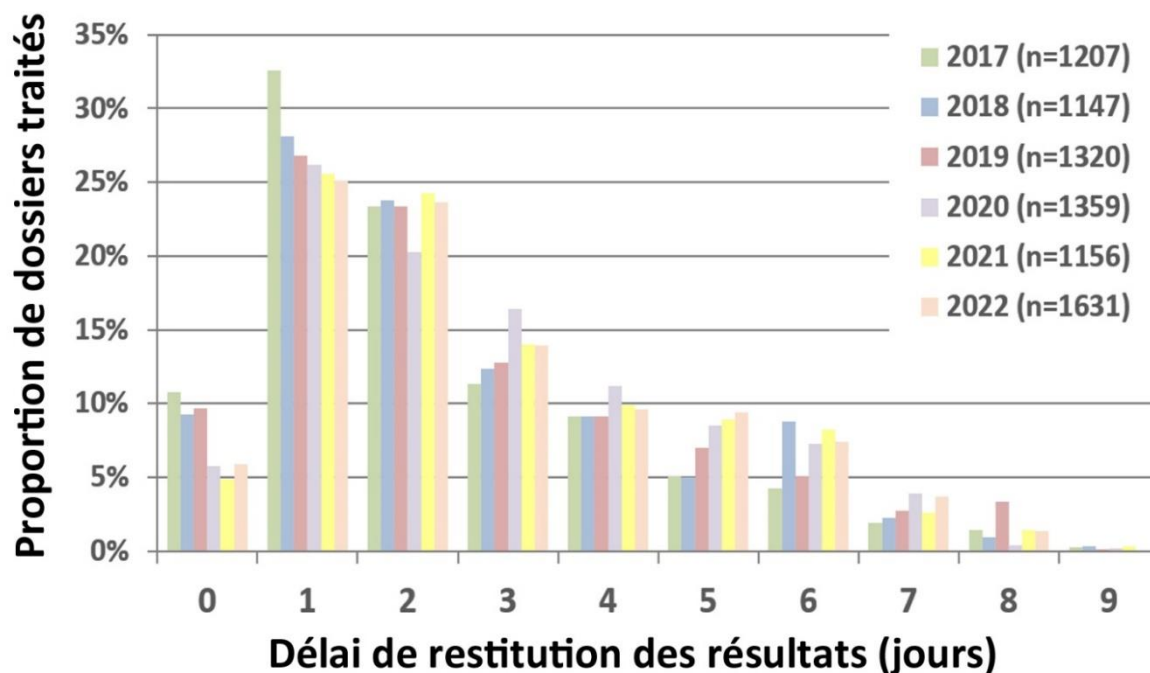


Figure 3 : Délai de restitution des résultats d'analyse de norovirus dans les selles de 2017 à 2022

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

2.5.5 Recherche de SARS-CoV-2 dans les selles

Fort de son expertise et son expérience dans la détection des virus dans les matrices fécales, le CNRvge a mis au point une technique de détection de coronavirus SARS-CoV-2 dans toutes les selles qui lui étaient adressées (*le statut virologique pour SARS-CoV-2 n'étant pas connu*). Un dossier de validation de méthode a été formalisée selon les recommandations de l'ANSM et le CNRvge participe à la détection de SARS-CoV-2 pour la qualification des selles de donneurs TMF dans les études thérapeutiques.

Sur un total de **768 selles investiguées entre janvier et décembre 2022**, seules 54 (7,0%) selles étaient positives pour SARS-CoV-2 chez des patients dont la moyenne d'âge était de 52,4 ans [6 semaines ; 94 ans] (médiane = 60 ans ; 26 femmes pour 30 hommes) : 28 immunodéprimés, 8 cas de diarrhées sporadiques, 5 cas d'épidémies groupées, 12 hospitalisés (médecine interne, maladies infectieuses, néphrologie) et 1 mort inexpliquée. (Figure 4)

À noter : dans le cadre de la qualification virologique de 404 dons de fèces pour TMF, 11 (2,7%) échantillons étaient positifs pour SARS-CoV-2.

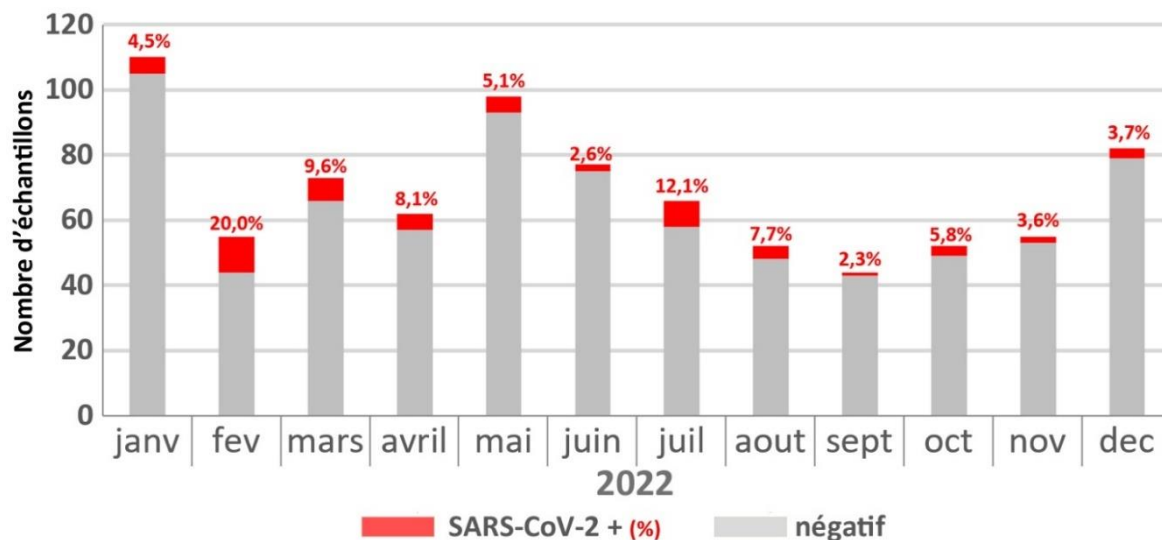


Figure 4 : Répartition saisonnière et statut des échantillons testés pour SARS-CoV-2 dans 768 selles entre janvier 2022 et décembre 2022 (1 prélèvement/patient).

2.6 Activités de séquençage

Séquençage Sanger

Le CNRvge a accès en routine à une plate-forme de séquençage Sanger pour le génotypage des souches de virus détectés dans les échantillons de selles qui lui sont confiés (norovirus, rotavirus, sapovirus, astrovirus, adénovirus, Aichi virus et parechovirus ; NB : les souches d'entérovirus détectées sont systématiquement adressées pour typage au CNR entérovirus). Depuis 2023, la plate-forme s'est dotée d'un nouveau séquenceur ABI 3500xL Dx en remplacement de son ancien ABI 3130xL vieillissant. Les préparations de séquençages, réactions et purifications, sont effectuées par l'équipe technique du CNRvge une ou deux fois par semaine. **Au total, 1135 souches (32,0%) ont été typées par séquençage en 2022 pour un volume de 3544 échantillons analysés.** Il s'agit cependant de typages par séquençage partiel de génomes.

Séquençage NGS

Le CNRvge a un accès limité à une plate-forme de séquençage haut-débit comportant actuellement deux séquenceurs Illumina® (MiSeq® et NextSeq® 550) hébergés sur la Plate-forme de Biologie Hospitalo-Universitaire (PBHU) du CHU Dijon Bourgogne. Le CNR est en cours d'acquisition, avec la Fédération de Microbiologie et l'aide de la Direction du CHU Dijon Bourgogne, d'un séquenceur Illumina® NextSeq® 1000 à l'orée 2023-24 et nécessitera une optimisation du pipeline afin de l'automatiser. La mise en place des activités de séquençage NGS sur prélèvements de selles est une approche complexe qui est volontairement limitée à la détection des virus ARN majoritairement responsables des gastro-entérites chez l'homme. De nombreuses interférences existent avec notamment les ARN génomiques de l'hôte mais surtout les ARN ribosomaux du microbiote et du mycobiote intestinaux. Le CNR est actuellement en capacité d'effectuer des analyses de type NGS pour le séquençage du génome complet des norovirus et des rotavirus dans les selles mais elles seront prochainement disponibles pour des analyses selon plusieurs axes : détection pan-virale métagénomique, investigation des cas négatifs complexes (en particulier chez l'immunodéprimé), le séquençage complet de génome de souches d'intérêt autres que norovirus et rotavirus, l'identification de souches vaccinales de rotavirus (réalisable actuellement par technique Sanger). L'assistant ingénieur du CNRvge a été formé à la bio-informatique pour le traitement des données et bénéficie récemment du support d'un ingénieur bio-informatique de la plate-forme de génétique du CHU Dijon Bourgogne. Pour le moment, les données peuvent être traitées via les outils Galaxy. Notre logiciel de métagénomique BioNumerics, que nous alimentons en continu depuis plus d'une décennie au sein du CNRvge, n'est malheureusement pas adapté pour les analyses des données NGS sur les virus entériques.

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Les séquences produites par séquençage Sanger sont transmises au réseau européen EuroRotaNet pour les rotavirus et au mondial NoroNet pour les norovirus. Les séquences d'intérêt quant à elles sont déposées sur GenBank (NCBI) et/ou European Nucleotide Archive (ENA).

3. Activités de surveillance

Éléments clefs de l'activité de surveillance du CNRvge en 2022 :

- **surveillance du réseau national rotavirus** : analyses de 760 prélèvements de selles : prépondérance des génotypes G3P[8] et G3eP[8] (51,5%), suivis des G9P[8] (23,1%) et G12P[8] (12,1%) ; très faible circulation des génotypes historiques G1P[8] (6,4%) et des G2P[4] (2,9%).
- **surveillance des épidémies** :
 - analyses de 99 épidémies : survenue tout au long de l'année avec un pic entre novembre et mars
 - 63 (63,6%) des épidémies sont survenues dans les EHPAD ou dans des hôpitaux
 - transmission le plus fréquemment de personne-à-personne (43,4%) mais près d'un tiers des épidémies ont une transmission d'origine inconnue

3.1 Description du réseau de partenaires

3.1.1 Réseau de surveillance des cas groupés de gastro-entérites

3.1.1.1 Réseaux de surveillance

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

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

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

- **Les autres laboratoires de référence** :

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

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

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

- **Centre National de Référence Virus des hépatites à transmission entériques (Hépatites A et E)**. AP-HP - Paris Paul Brousse (Pr. Anna- Maria ROQUE-AFONSO) et CHU de Toulouse (Pr. Jacques IZOPET). Nous collaborons étroitement avec ces CNR, notamment pour les épidémies d'origine hydrique ou alimentaire.

- **Centre National de Référence Entérovirus et Paréchovirus**, Hospices Civils de Lyon (Pr. Bruno LINA) et CHU de Clermont-Ferrand (Pr. Cécile HENQUELL). Nous collaborons étroitement avec les CNR : nous assurons la détection dans les selles, en cas de positivité le virus ou le prélèvement est adressé au CNR des entérovirus et paréchovirus pour une caractérisation moléculaire et une enquête virologique spécifique.

3.1.1.2 Provenance des échantillons (Figure 5)

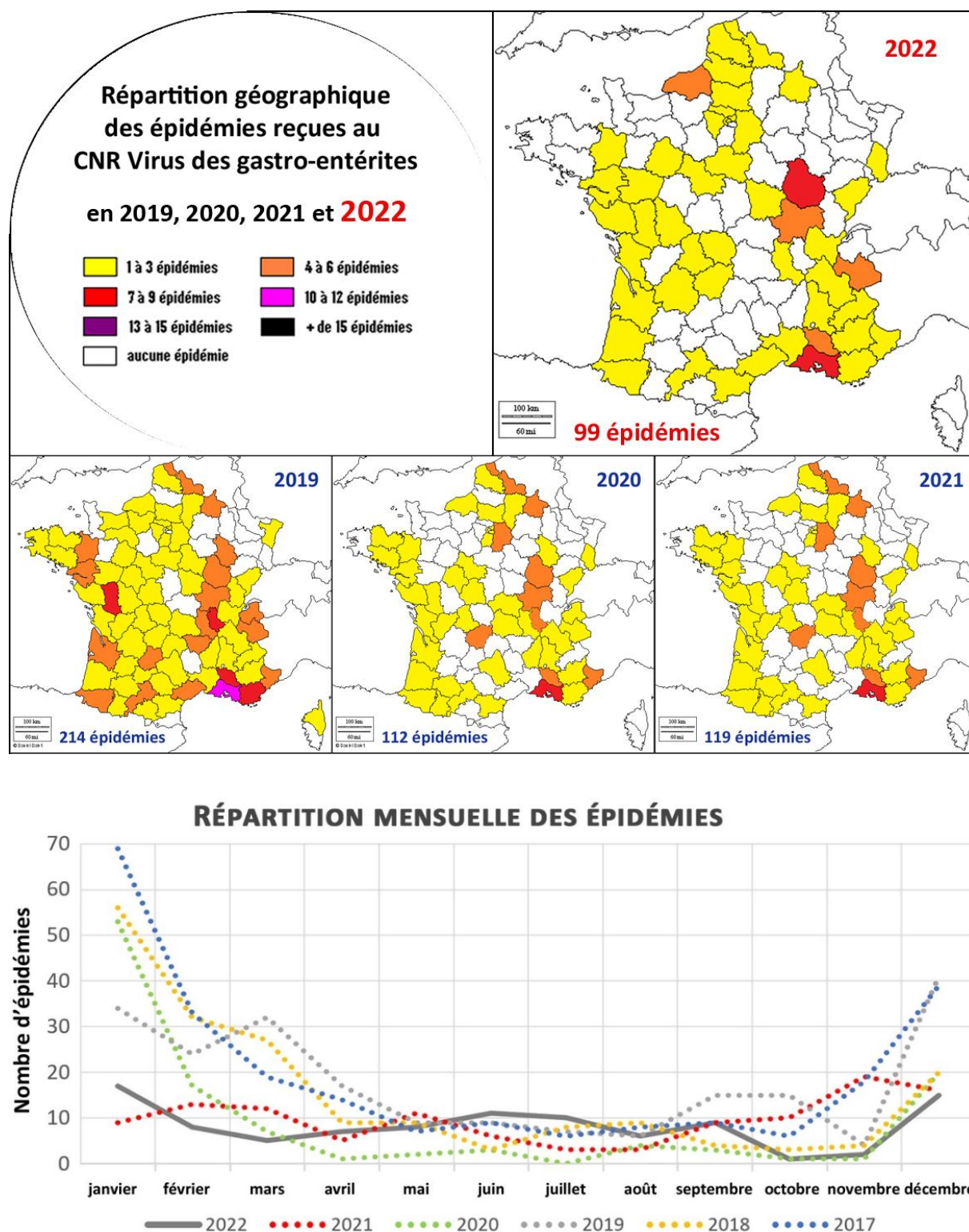


Figure 5 : Épidémies de cas groupés.

(a) Répartition géographique des épidémies reçues. Bilan de l'activité du CNR de 2019 à 2022. À noter que tous les départements nous ont envoyé des prélèvements au moins une fois depuis 2012 à l'exception de l'Aube (10) et l'Eure-et-Loir (28). (b) Répartition mensuelles des épidémies reçues. Bilan de l'activité du CNR de 2017 à 2022.

3.1.2 Réseau de surveillance des gastro-entérites à rotavirus

Historiquement, une surveillance moléculaire des souches de rotavirus en milieu pédiatrique avait été mise en place en prévision de la prochaine disponibilité de vaccins contre rotavirus. Depuis 2004 et surtout l'hiver 2006 nous avons développé un réseau de surveillance épidémiologique et moléculaire des rotavirus comprenant de nombreux CHU et CH répartis sur le territoire. Ce réseau national est connecté à un plus large réseau européen, le réseau **EuroRotaNet** (Figure 6).

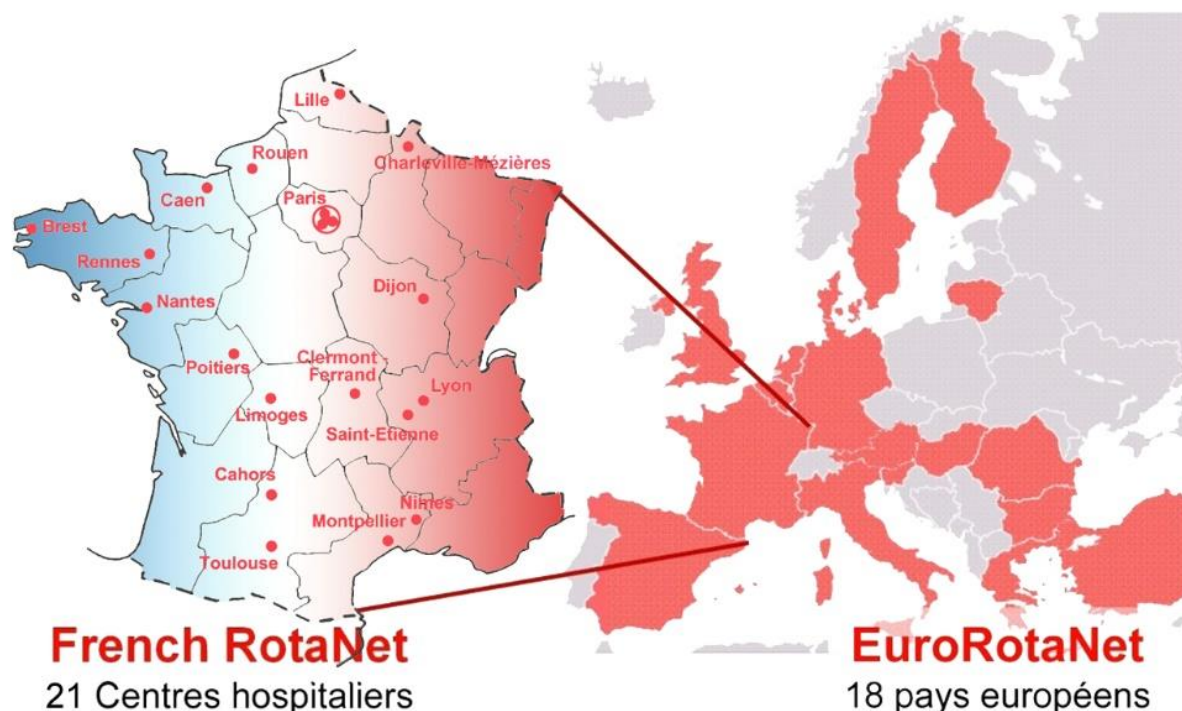


Figure 6 : Répartition des centres participant au réseau national rotavirus en 2022.

La recommandation de la vaccination contre rotavirus, suspendue en 2015, a été réintroduite dans le calendrier vaccinal par la HAS le 23 juin 2022. Les deux vaccins oraux historiques, Rotarix (GSK) et Rotateq (MSD France) qui avaient reçu l'AMM en 2006, sont désormais inscrits sur la liste des spécialités pharmaceutiques remboursables à 65% depuis fin 2022. Par conséquent, leurs utilisations, jusqu'ici quasi confidentielles avec une couverture <5% en France, pourraient désormais croître rapidement dans les prochains mois et années. Dans sa stratégie vaccinale, la HAS recommande tout particulièrement « la poursuite de la surveillance des souches, cruciale pour documenter une éventuelle évolution de la prévalence des souches associées suite à l'introduction de la vaccination contre les infections à rotavirus ». Ce réseau s'inscrit résolument dans ces objectifs.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.1 Caractéristiques épidémiologiques des cas groupés

3.2.1.1 Aspect saisonnier des épidémies

La saisonnalité hivernale est très marquée pour les épidémies survenant en EHPAD et hôpitaux, au contraire de celles survenant dans les centres pour adultes ou lors de réceptions (Figure 7). 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).

En 2022, 48,5% des épidémies analysées au CNR sont survenues entre novembre et mars (69,2% de 2012 à 2021) et 64,6% entre octobre et avril (80,2% de 2012 à 2021). Bien que l'épidémiologie ait été encore perturbée par la poursuite de l'épidémie de COVID, cette forte saisonnalité automno-hivernale concerne le plus souvent les épidémies survenant en établissements de soins et non pas celles survenant en collectivités ou dans les restaurants qui ont lieu toute l'année. Cette observation est comparable aux différences de saisonnalité entre les épidémies transmises de personne-à-personne et celles d'origine alimentaire ou hydriques.

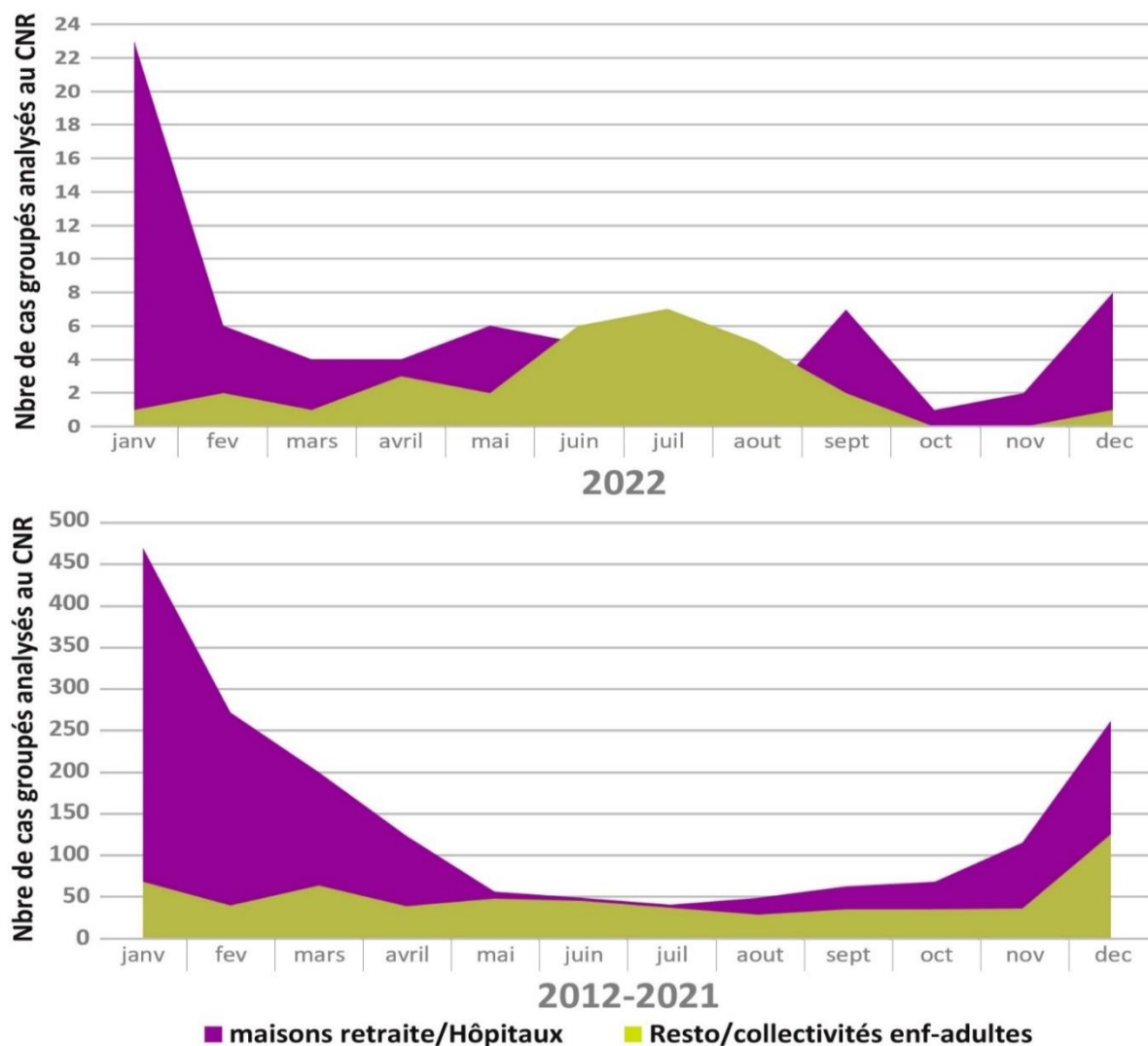


Figure 7 : Répartition temporelle des cas groupés pris en charge par le CNR en fonction de l'origine de l'épidémie. (a) bilan de l'activité du CNR en 2022 et (b) bilan de l'activité de 2012 à 2021.

3.2.1.2 Sites et modes de transmission

Malgré le contexte sanitaire particulier depuis 2020, les modes de transmission observés en 2022 sont globalement similaires à l'ensemble de la période 2012-2021 (Tableau 7).

Tableau 7 : Répartition des épidémies selon le site et le mode de contamination.

sites/transmissions		pers-à-pers	inconnu	aliments	hydrique	Total
2022	EHPAD	39 (39,4%)	20 (20,2%)	4 (4,0%)	0 -	63 (63,6%)
	hôpitaux	1 (1,0%)	5 (5,1%)	0 -	0 -	6 (6,1%)
	réception	0 -	1 (1,0%)	5 (5,1%)	0 -	6 (6,1%)
	centre enfants	3 (3,0%)	4 (4,0%)	7 (7,1%)	5 (5,1%)	19 (19,2%)
	centre adultes	0 -	3 (3,0%)	2 (2,0%)	0 -	5 (5,1%)
	Total	43 (43,4%)	33 (33,3%)	18 (18,2%)	5 (5,1%)	99
2012-2021	EHPAD	988 (43,0%)	455 (19,8%)	105 (4,6%)	11 (0,5%)	1559 (67,9%)
	hôpitaux	128 (5,6%)	87 (3,8%)	26 (1,1%)	0 -	241 (10,5%)
	réception	11 (0,5%)	9 (0,4%)	231 (10,1%)	0 -	251 (10,9%)
	centres enfants	58 (2,5%)	30 (1,3%)	63 (2,7%)	8 (0,3%)	159 (6,9%)
	centres adultes	20 (0,9%)	22 (1,0%)	44 (1,9%)	1 (<0,1%)	87 (3,8%)
	Total	1205 (52,5%)	603 (26,3%)	469 (20,4%)	20 (0,9%)	2297

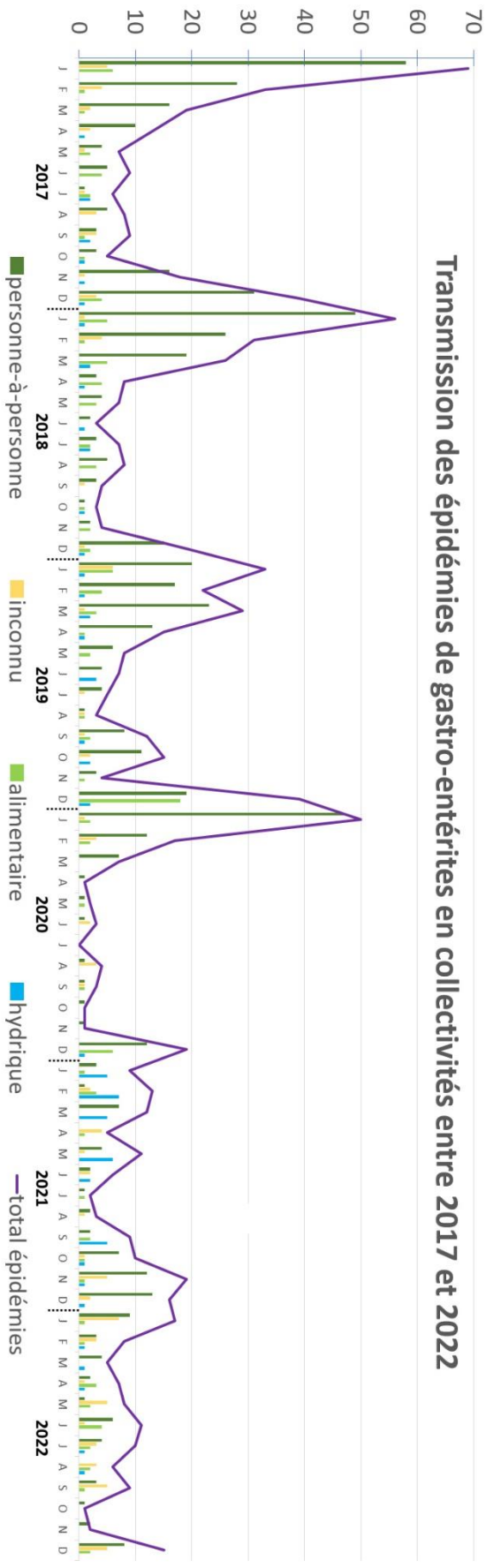
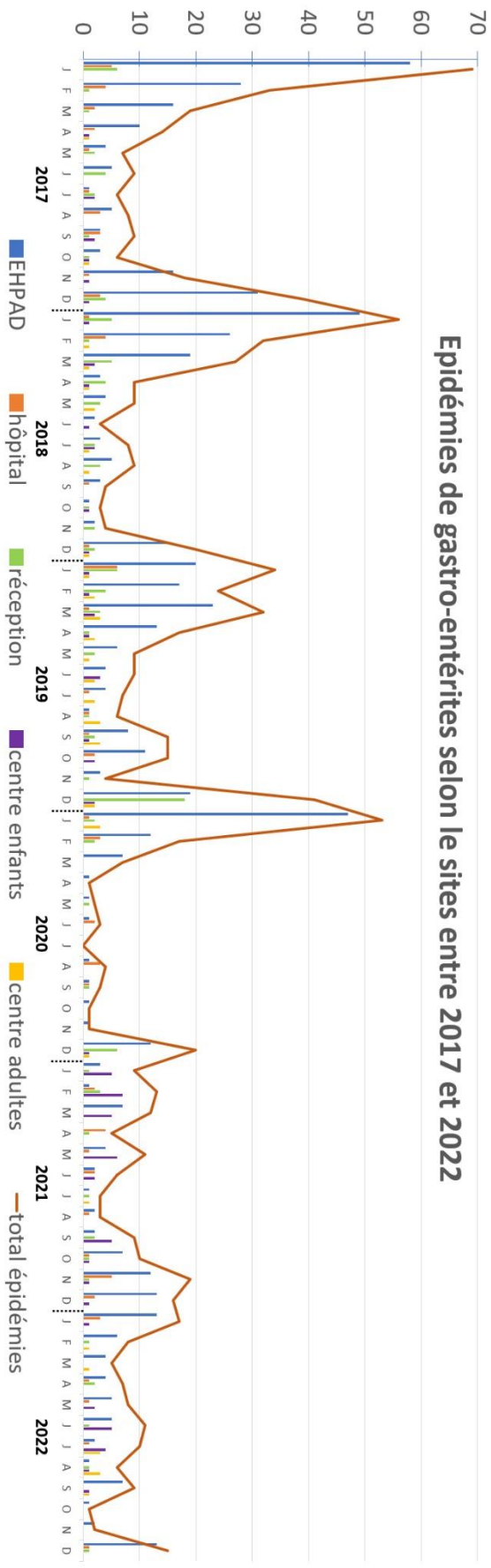


Figure 8 : Lieux et modes de transmission des épidémies de gastro-entérites entre 2017 et 2022.

– **Site ou établissement :**

En 2022, près des deux tiers des 99 épidémies sont survenues dans des EHPAD avec 63 épidémies (63,6%), ce qui est similaire à ce qui est observé depuis 2012 (67,9%). En parallèle, le nombre de cas observés dans les centres pour enfants reste élevé (19 ; 19,2%) alors que celui observé dans les hôpitaux est faible (6 ; 6,1%). Cette situation peut s'expliquer par le rebond de circulation des virus dans la population touchant particulièrement les enfants et les personnes âgées après la levée des contraintes sanitaires alors que des règles accrues d'hygiènes ont été maintenues à l'hôpital.

– **Mode de transmission :**

En 2022, le mode de transmission de **personne-à-personne, le plus fréquent, est incriminé dans 43 épidémies soit 43,4% des cas**. Cependant, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour près d'un tiers des épidémies (33 ; 33,3%). Une origine alimentaire a été à l'origine de 18 épidémies (18,2%) où 2 épidémies (11,1% ; 2,0% de l'ensemble) étaient dues à des fruits de mer/poissons. Globalement, ces résultats sont superposables à ceux constatés au cours de la période 2012-2021.

– **Relation site et mode de transmission :**

En 2022, la majorité des épidémies est advenue dans des EHPAD ou des services hospitaliers mais avec une fréquence plus faible qu'au cours de la période 2012-2021 (69,9% vs. 78,4%). Le principal mode de propagation des virus entériques dans ces établissements était une transmission de personne-à-personne (58,0% en 2022 vs. 62,0% de 2012 à 2021). Cependant, les causes inconnues restent encore fréquentes (36,2% en 2022 vs. 30,1% de 2012 à 2021). L'origine alimentaire y est toutefois retrouvée dans quelques épidémies (5,8% en 2022 vs. 7,3% de 2012 à 2021).

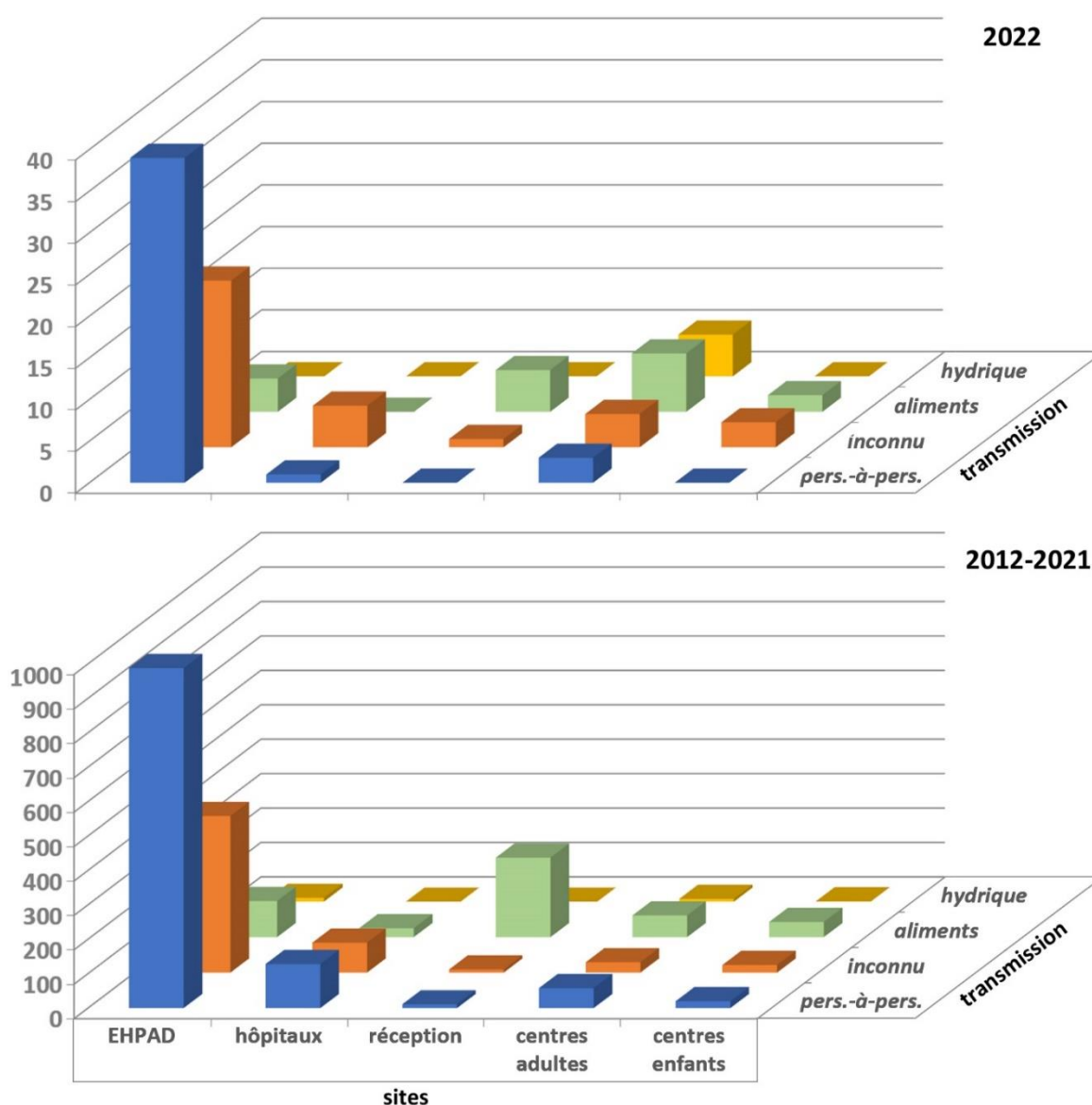


Figure 9 : Relation entre type d'établissement et le mode de transmission. (a) bilan de l'activité du CNR en 2022 et (b) bilan de l'activité de 2012 à 2021.

3.2.2 Caractéristiques virologiques des épidémies de gastro-entérites à rotavirus en France : bilan de la surveillance de la saison 2021-2022

Vingt et un centres participent à cette étude depuis 2006 et **10 centres ont pu envoyer des prélèvements pour la saison 2021-2022** : Dijon, Lille, Lyon, Montpellier, Nantes, Nîmes, Paris, Poitiers, Rouen, Saint-Etienne et Toulouse.

Au total, nous avons reçu et analysé **12.541 prélèvements de rotavirus entre 2006 et 2022**. Pour la saison 2021-22, **759 prélèvements ont été reçus**.

3.2.2.1 Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus

Les infections à rotavirus sont saisonnières et surviennent durant les mois d'hiver. Au niveau européen, nos études avec le réseau EuroRotaNet montrent un gradient Sud-Nord et Ouest-Est avec un pic d'infections plus précoce en Espagne (décembre à février) et plus tardif (avril-mai) dans les pays du nord et de l'est de l'Europe. **En France, le pic d'infections de la saison 2021-22 est un peu plus précoce avec une circulation virale rapidement croissante pour atteindre un pic en janvier et mars, et avec une amplitude forte contrastant avec la précédente saison.** La survenue de la pandémie de SARS-CoV-2 a été à l'origine d'une pause dans l'épidémie de rotavirus pendant l'année 2020, notamment en raison de l'utilisation de gestes barrières, de solutions hydroalcooliques et du confinement. L'assouplissement des règles d'hygiène combiné à une probable diminution de l'immunité collective vis-à-vis de nombreux agents infectieux, dont rotavirus, pourraient être à l'origine de ce fort rebond épidémique.

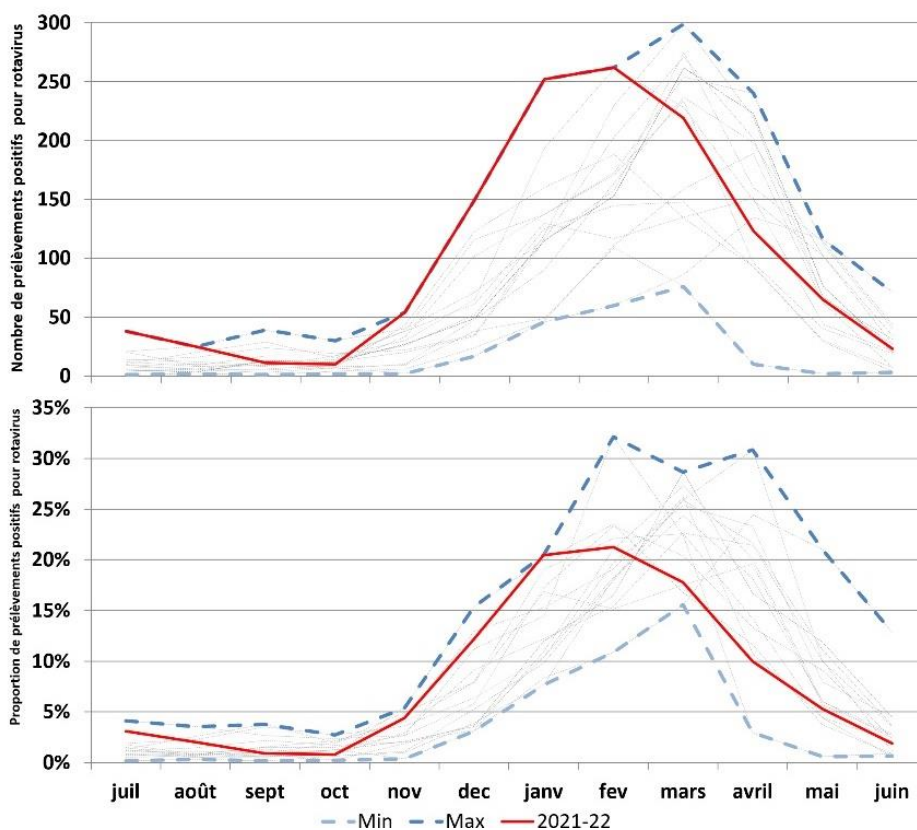


Figure 10 : Distribution temporelle des infections à rotavirus pour la saison 2021-22 comparée aux maximums et minimums des saisons de 2006 à 2022.

Globalement, il y a peu de différence d'une année à l'autre puisque le pic des infections a lieu en mars pour 9 saisons sur 13 de 2006 à 2019, les autres ayant eu lieu en février pour les saisons 2007-08, 2016-17, et 2021-22, et en avril pour 2006-07, 2018-19 et 2020-21. Les mois les plus importants sont février-mars-avril pour 9 saisons (2006-07, 2009-10, de 2011 à 2016, 2017-18, 2020-21) et janvier à mars pour les 6 autres (2007-08, 2008-09, 2010-11, 2016-17, 2018-19 et 2021-22). À part, la saison 2019-20 aurait pu s'inscrire dans ce schéma sans la pandémie de coronavirus car l'amorce du pic épidémique était similaire.

3.2.2.2 Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P

Saison 2021-2022 (Figure 11)

En tout 760 prélèvements ont été caractérisés au cours de la saison 2021-22. En comparaison avec l'étude globale, les résultats importants de cette dernière saison sont :

- le génotype G3P[8] continue sa progression depuis l'émergence d'une souche « *equine-like* » au cours de la saison 2017-18. Au cours de cette nouvelle saison, le génotype G3P[8] représentait 51,5% des souches génotypées dont 33,4% étaient des G3eP[8] (soit 17,2% de toutes les souches génotypées au cours de la saison). Ces nouvelles souches recombinantes humain-équine allient un segment VP7 de type G3 d'origine équine à une constellation de gènes d'origine humaine dont un segment VP4 de type P[8] (soit un profil DS1-like : G3-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1).
- le génotype G9P[8], bien qu'en retrait au cours de cette saison avec une fréquence de 23,1%, reste l'un des génotypes majeurs en France. Ces souches diffèrent peu des souches détectées continuellement depuis la saison 2004-2005 qui a vu ce génotype émerger en France.
- le génotype G12P[8] fait une nette percée au cours de cette saison avec 12,1% des souches circulant en France.
- les autres génotypes importants sont :
 - G1P[8] (6,4%), très en retrait depuis la saison 2015-16, reste néanmoins le premier génotype toutes saisons confondues (43,4%).
 - G2P[4] (2,9%) retourne à l'un de ses plus faibles niveaux de fréquence au cours des 20 dernières années.
- à noter l'absence pour la 5^{ème} saison consécutive de la circulation du génotype G4P[8].

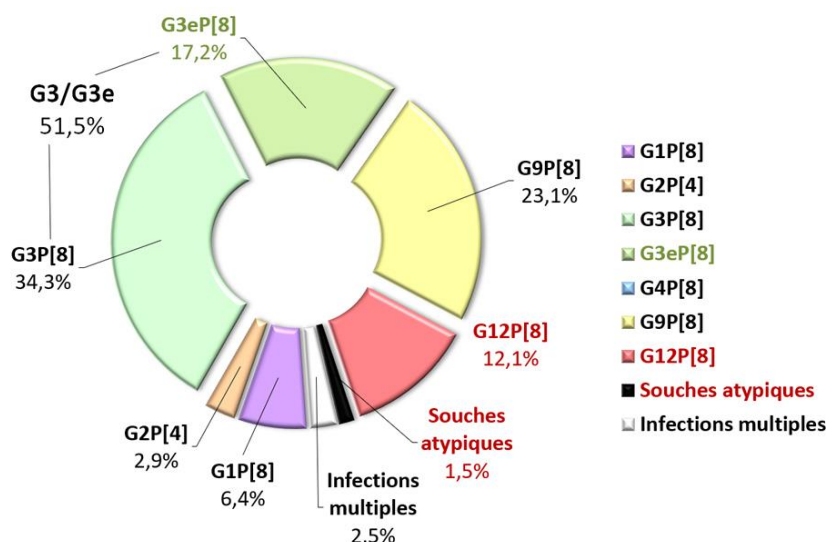


Figure 11 : Distribution des combinaisons de génotypes G et P des rotavirus détectés en France durant la saison 2021-2022 (760 prélèvements)

La persistance d'un nombre de souches non ou partiellement typables (>6%) est liée à la très bonne sensibilité 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 mais dont les charges virales sont généralement très faibles et donc non typables.

Bilan 2006-2022 (Figure 12)

Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2021-2022 est de **12268 souches de rotavirus** totalement ou partiellement caractérisées (Tableau 1). Les quatre principales combinaisons de génotypes G/P ont été durant ces quinze années : **G1P[8] (43,4%) suivie de G9P[8] (29,4%), cumulant à elles seules près des ¾ des souches détectées (72,8%), puis G3P[8] (12,9%) et G2P[4] (6,3%)**. Les autres combinaisons d'importance significative étaient **G12P[8] (2,7%) et G4P[8] (1,9%)**.

Ainsi, les six combinaisons génotypiques désormais classiques (G1/G3/G4/G9/G12P[8] et G2P[4]) représentaient 96,6% des souches caractérisées. Les **génotypes ou combinaisons atypiques** (incluant notamment quelques associations de génotypes G et P classiques) représentent **1,8 %** et les infections mixtes 1,6%.

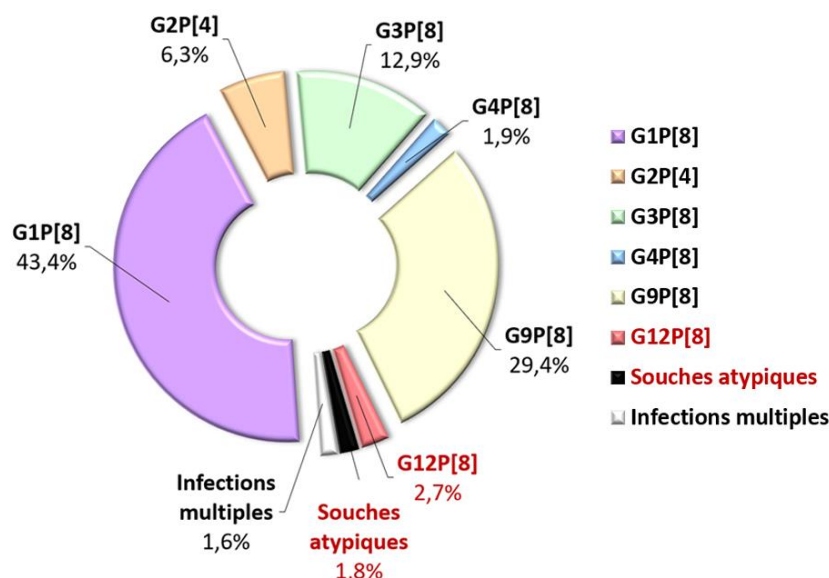
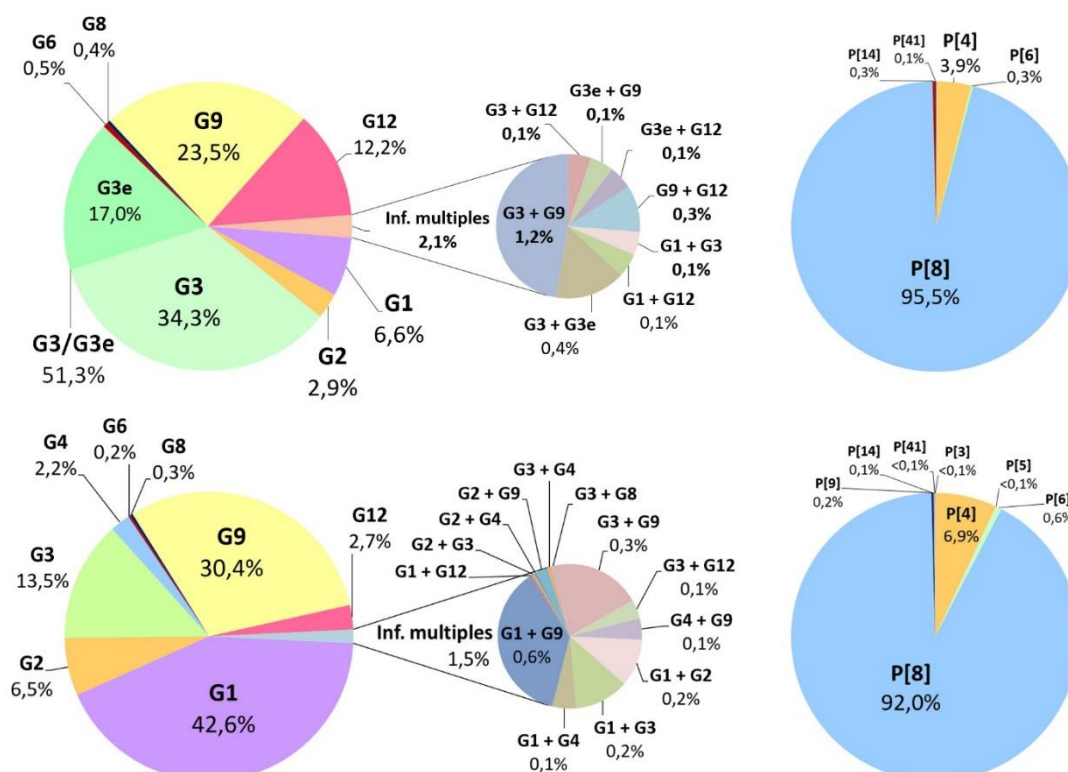


Figure 12 : Distribution des combinaisons de génotypes G et P des rotavirus détectés en France durant l'ensemble de la surveillance 2006-2022 (12268 souches)

3.2.2.3 Analyse de la répartition des génotypes G ou P

L'analyse séparée des **génotypes G** montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France en 2021-2022 ont été des souches **G6** (4 souches, 0,5%) et **G8** (3 souches, 0,5%). Aucun génotype G5, G6 ou G10 (souches d'origine bovine) n'a été caractérisé durant la saison 2021-2022. Les faits marquant de cette saison 2021-2022 sont la **forte circulation des rotavirus G3** avec une fréquence de 34,3% (260 souches), la **nette augmentation des rotavirus G3e** avec une fréquence de 17,0% (129 souches), la **décroissance des rotavirus G9** avec une fréquence de 23,5% (178 souches), et la **recirculation des rotavirus G12** avec 12,2% de détection (92 souches).

Les **génotypes P** sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** avec globalement 92,0% entre 2006-2022 et 95,5% en 2021-22, alors que le génotype **P[4]** représente globalement 6,9% entre 2006-2022 et 3,9% cette dernière saison. Ce résultat concernant le génotype P[4] est à considérer dans le suivi des effets de la vaccination même si les dernières données montrent que les variations sont essentiellement dues à une fluctuation naturelle saisonnière.



Figures 13 et 14. Distribution des génotypes G et P détectés en France pour la saison 2021-22 et entre 2006 et 2022

Tableau 8 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2022 et durant la saison 2021-2022.

		Nombre de souches de rotavirus génotypées					
		2006-2021 n=11798		2021-2022 n=760		2006-2022 n=12541	
Génotypes G ^a	G1	5294	44,9%	50	6,6%	5344	42,6%
	G2	789	6,7%	22	2,9%	811	6,5%
	G3	1307	11,1%	395	52,0%	1702	13,6%
	G4	282	2,4%	-	-	282	2,2%
	G6	25	0,2%	4	0,5%	29	0,2%
	G8	35	0,3%	4	0,5%	38	0,3%
	G9	3641	30,9%	178	23,5%	3819	30,4%
	G10	2	0,0%	-	-	2	<0,1%
	G12	249	2,1%	92	12,1%	341	2,7%
Infections mixtes (types G)	G1 + G2	20	0,2%	1	0,1%	20	0,2%
	G1 + G3	22	0,2%	-	-	23	0,2%
	G1 + G4	10	0,1%	-	-	10	0,1%
	G1 + G9	69	0,6%	-	-	69	0,5%
	G1 + G12	-	-	1	0,1%	1	<0,1%
	G2 + G3	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	G2 + G4	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	G2 + G9	5	<0,1%	-	-	5	<0,1%
	G3 + G4	2	<0,1%	-	-	2	<0,1%
	G3 + G8	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	G3 + G9	28	0,2%	10	1,3%	38	0,3%
	G3 + G12	6	0,1%	2	0,3%	8	0,1%
	G4 + G9	9	0,1%	-	-	9	0,1%
	G9 + G12	-	-	1	0,1%	1	<0,1%
Génotypes P ^a	P[3]	5	<0,1%	-	-	5	<0,1%
	P[4]	826	7,1%	30	(23,8)	856	6,9%
	P[5]	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	P[6]	78	0,7%	2	(1,4)	80	0,6%
	P[8]	10620	91,6%	738	(74,9)	11358	91,8%
	P[9]	27	0,2%	-	-	27	0,2%
	P[14]	16	0,1%	2	(0,3)	18	0,2%
	P[41]	-	-	1	(0,1)	1	<0,1%
	P[4] + P[8]	27	0,2%	-	-	27	0,2%
Infections mixtes (types P)							

^a Inclus les infections multiples

Entre 2006 et 2022, les génotypes atypiques en France étaient représentés par P[3], P[5], P[6], P[9], P[14] et P[41] ce qui représentait 132 (1,1%) souches. Durant la saison 2021-22 nous avons détecté les génotype P[6] (2 souches), P[14] (2 souches) et, pour la première fois, P[41] (1 souche), soit 0,6% du total des souches caractérisées.

La constance et l'hégémonie de la prévalence du génotype P[8] entre 2006 et 2022 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.

3.2.2.4 Variations temporelles des combinaisons de génotypes G/P

1/ Variations des génotypes G/P entre 2006-2022 (Figure 15)

Évolution des génotypes G/P « classiques »

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

- **le génotype G1P[8]** : stable depuis plus de 10 ans, il a vu sa fréquence chuter avec la réémergence des G9P[8] puis des G3P[8] (entre 53,0% et 73,1% entre 2005 et 2015 ; entre 9,0% et 16,8% en 2015 et 2019 ; et seulement entre 6,0 et 11,7% depuis 2019-20). Ce phénomène a déjà été observé en 2004-05 mais il n'avait duré qu'une seule saison. Les résultats des génotypages des prochaines saisons seront à regarder de près avec soit une réémergence des G1P[8] au détriment des G9P[8], G3P[8] voire G12P[8], soit avec des accroissement/persistance de circulation de ces derniers.
- **le génotype G2P[4]** évoluent de façon cyclique selon les saisons, oscillant entre 1,6% et 17,2% en fréquence. Au cours de la dernière saison 2021-22, on notera néanmoins un plus bas depuis 20 ans avec seulement 2,7% des souches génotypées.
- **le génotype G3P[8]** : jusqu'ici sa fréquence restait relativement faible avec quelques pics de détection supérieur à 20% au cours des saisons 2003-04 et 2011-12. Les saisons 2017-18 et 2018-19 indiquaient une probable réémergence de ce génotype qui s'est confirmée au cours de la saison 2019-20. Cette réémergence due à la souche G3 *equine-like* (G3e) se confirme au cours de cette saison avec une forte poussée des G3P[8] (48,0%) dont près d'un tiers de G3eP[8].
- **le génotype G4P[8]** circule à bas niveau depuis nombreuses saisons avec un maximum à 7,3%. Les souches G4P[8] ne sont plus détectées depuis 5 saisons.
- **le génotype G9P[8]** : après sa brutale émergence en 2004-05 (65,0%), sa fréquence diminuait régulièrement de 25,1% à 6,3% en 2012-2013. Sa réapparition à un taux élevé au cours des saisons 2013-14 et 2014-15 (21,1% puis 30,9%) puis sa réémergence au cours des saisons 2015-16 et 2016-17 (66,0% et 74,1%, respectivement) et son maintien à des fréquences élevées au cours des saisons 2017-18 et 2018-19 (47,0% et 49,1%) laissent des interrogations quant à sa circulation et son évolution d'autant que cette forte prévalence semble concerner plus particulièrement la France à contrario des pays européens voisins. Après une saison 2019-20 où sa fréquence a fortement chuté (12,0%), G9P[8] se maintient à 21,5 au cours de la saison 2021-22.
- **le génotype G12P[8]** : son émergence récente (4,2% en 2011-12 et 3,0% en 2012-13) laissait penser qu'il deviendrait l'un des six génotypes importants en France. Après quelques saisons creuses (0,6% à 2,8% de détection), ce génotype a été détecté à une fréquence particulièrement élevée de 19,5% (52 souches) en 2019-20 confirmant la persistance et l'accélération de la circulation des rotavirus G12 en France. Cependant, sa circulation subit d'importante variation saisonnière. Au cours de la dernière saison, ce génotype représentait 11,3% des souches.

Évolution des génotypes ou combinaisons atypiques

- **les génotypes atypiques** sont des combinaisons incluant l'un des génotypes **G6, G8, G10, P[3], P[5], P[6], P[9] et P[14]**. Sur l'ensemble de l'étude, elles représentent **145 souches (1,2%) dont 8 (1,1%) en 2021-22**. Parmi ces génotypes inhabituels, le génotype P[6] est le plus important (82 souches au total). Certaines souches peuvent être d'origine animale, notamment bovine et caprine. Il s'agissait pour la dernière saison de souches G8P[8] (1), G8P[14] (1), G6P[6] (3) et G6P[14] (1). Les souches G8P[8], détectées régulièrement depuis quelques saisons, sont à surveiller car elles pourraient émerger dans les prochaines saisons à l'instar des G9P[8] (2004-05) et G12P[8] (2011-12). Cette combinaison génotypique montre l'adaptation des souches G8 à l'homme.
- à noter la **détection d'une souche exceptionnelle G6P[41]** qui a été retrouvée dans les selles d'une jeune fille de 4 ans et 8 mois à Lyon. C'est la première souche G6P[41] et la seconde souche P[41] détectée dans le monde, la première étant une G29P[41] détectée chez l'homme en Belgique.
- **les combinaisons atypiques**, par exemple G2 associé à P[8] ou G1, G3, G4, G9 ou G12 associé à P[4] représentent 1,0% des souches détectées de 2006 à 2021 et 0,5% des souches (4 G9P[4]) au cours de la saison 2021-22.

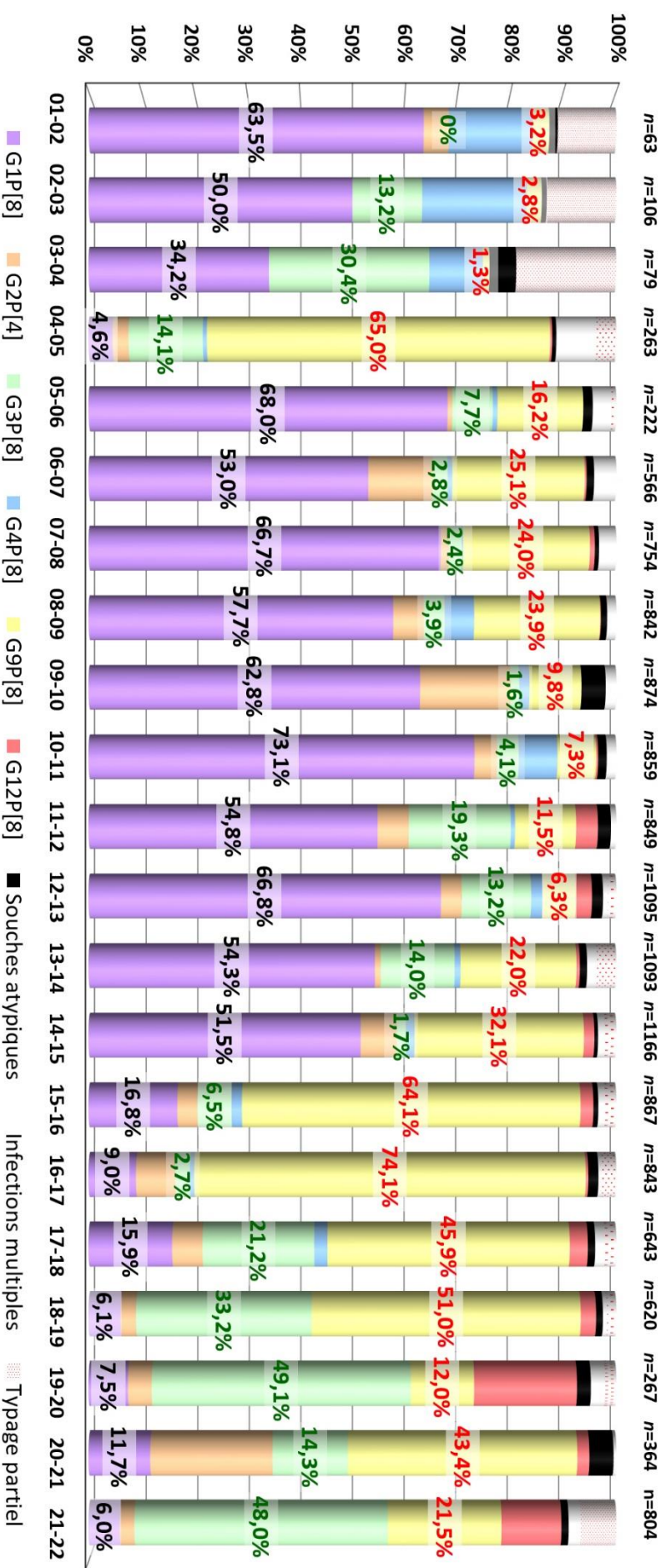


Figure 15. Évolution des combinaisons de génotypes G/P de rotavirus en France entre 2001 et 2022
(Noter que la période 2001 à 2006 est une étude limitée.)

2/ Variabilité géographique des génotypes de rotavirus (Figure 16)

Nous avons montré dans les précédents rapports qu'il existait une **variabilité géographique, selon les centres**. Nous retrouvons lors de cette saison 2021-22 cette même variabilité géographique avec une forte fréquence de détection de G3P[8] et de G3eP[8] qui varie de 23,6% (Saint-Etienne) à 100% (Nantes). Les G9P[8] ont également une grande variabilité de circulation allant de 0% (Nantes) à 44,7% (Saint-Etienne), ainsi que les G12P[8] de 0% (Nantes) à 31,7% (Toulouse). Néanmoins, cette variabilité concerne tous les génotypes. On peut noter, en particulier, une fréquence très marquée des G2P[4] à Montpellier alors qu'ils ne circulent pas ou très faiblement dans tous les autres centres. Il existe donc des circulations régionales préférentielles de certains génotypes.

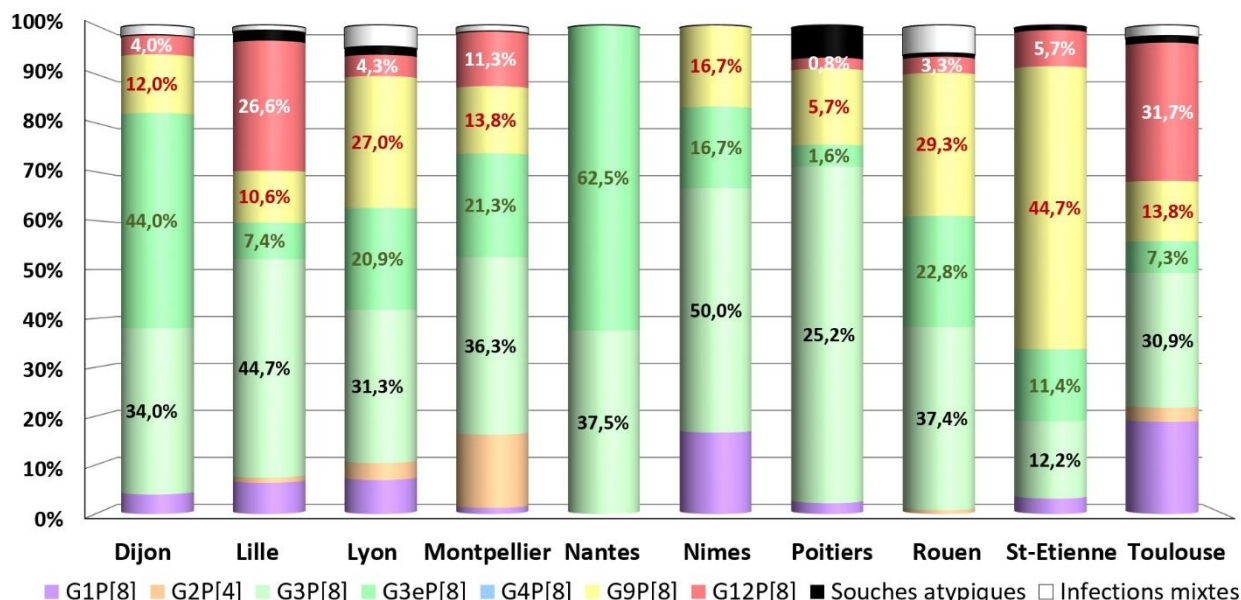


Figure 16 : Distribution des génotypes en France selon les centres durant la saison 2021-22

3.2.2.5 Conclusions

La surveillance épidémiologique des souches de rotavirus a été effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale. En effet, la couverture vaccinale ne dépasse pas, en 2022, 5% tous vaccins confondus (c.-à-d. pour les vaccins Rotarix® (monovalent, GSK) et Rotateq® (pentavalent, Merck)).

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

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

- la **prédominance du génotype G1** à l'exception de la saison 2004-05 et depuis la saison 2015-16.
- l'**émergence de nouveaux génotypes** :
 - le **génotype G9** est devenu, depuis la saison 2004-2005, un génotype « classique » avec G1, G2, G3 et G4. Il a réémergé depuis la saison 2015-2016 et a circulé parfois avec une forte prévalence au cours des saisons suivantes.
 - le **génotype G12**, depuis la saison 2011-2012, a été globalement moins « brutale » que celle du génotype G9, représentant en France entre 2 et 4% des souches avec des différences significatives selon les centres. Ce génotype circule de manière régionale en France mais a connu une brève augmentation de sa circulation (19,9%) au cours de la saison 2019-20 avant de retomber (2,3%) au cours de la dernière saison.
 - le **génotype G3 equine-like** (G3e) a émergé progressivement au cours des dernières saisons jusqu'à devenir prépondérant au cours des dernières saisons.
- la **variation cyclique des génotypes G2, G3 et surtout la disparition des G4** depuis 5 saisons consécutives.
- la stabilité de la fréquence des souches inhabituelles (notamment le génotype P[6]) et l'existence, parmi celles-ci, de **souches d'origine animale** infectant les enfants. Depuis quelques saisons, des souches G8P[8] sont régulièrement détectées démontrant une adaptation à l'homme des souches G8 d'origine bovine (usuellement G8P[14]). Ces souches pourraient émerger dans les prochaines saisons.

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

3.3 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

3.3.1 Réseaux internationaux *NoroNet* et *EuroRotaNet*

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

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

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

*Composition des réseaux européens : Ces réseaux regroupent 14 laboratoires de 12 pays européens : **Pays Bas**: RIVM, Bilthoven (Dr M. Koopmans) ; **Finlande**: Helsinki University Central Hospital (Dr von Bonsdorff KH) ; **Danemark**: Virus Diagnostics Laboratory, 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 (Dr F. Le Guyader S), CNR hépatites A (APHP Paul Brousse, Pr AM. Roque-Afonso) et E (CHU Toulouse, Pr J. Izopet), CNR virus des gastro-entérites (CHU Dijon, Pr A. de Rougemont).*

3.3.2 Relations avec les pays du Sud

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

Les collaborations avec le Maghreb sont le plus souvent soutenues par les programmes CMCU et Hubert Curien du Ministère des Affaires Étrangères et du Ministère de la Recherche. Durant l'année 2022 ce réseau a été principalement actif avec la **Tunisie** avec le Dr. Khira SDIRI-LOULIZI (chercheuse universitaire invitée de l'Université de Monastir) dont les travaux portent sur les norovirus et les virus Aichi ; et le **Maroc** via un co-encadrement de thèse a été initié avec le Pr. Jamal HAFID de l'Université Cadi Ayyad de Marrakech et portant sur les virus entériques dans les eaux usées.

4. Alertes

4.1 Contact hebdomadaire avec Sante Publique France (SPF)

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

4.2 Procédures d'alerte de SPF et des autres partenaires

Annnonce 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 du CNR
- 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 (<https://voozanoo.invs.sante.fr>).

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

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

- Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo : annonce d'une épidémie au CNR directement par un laboratoire, une ARS. Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à SPF, créer une nouvelle fiche pour entrer les premières informations.
- Rendu des résultats à SPF : les résultats préliminaires et définitifs sont entrés dans la base Voozanoo de SPF. Parallèlement, les résultats définitifs sont entrés dans le système informatique des laboratoires (SIL) 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 serveur sécurisé le tableau de *synthèse* (S:\CNR Virus Enteriques\Tableaux de synthèse\Synthèse échantillons) le ou les numéros et identifier chacun des échantillons face au numéro en fin de liste (commencer par E...) puis les enregistrer sur le serveur du CHU (S:\CNR Virus Enteriques\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 de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

5.1.1 Site internet : www.cnr-ve.org

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

Sur le site se trouvent également toutes les communications et publications du CNR et met à disposition les rapports d'activité du CNR. Lien internet : <http://www.cnr-ve.org>



5.1.2 Activité de formation

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

Stagiaires accueillis en 2022 :

- Mme le Dr. Khira SDIRI-LOULIZI (Université Monastir, Tunisie) : travaille d'épidémiologie moléculaire sur les norovirus chez les enfants tunisiens et les virus Aichi dans l'eau.
- Équipe technique de l'UMT Viro-contrôle : transfert technologique dans le cadre de travaux sur l'infectiosité des norovirus dans l'eau et dans les huîtres.
- Mme Nicole ABOU-AHMAD (Université de Bourgogne Franche-Comté) : thèse de doctorat d'université.
- Mme Perrine MAS (Université de Bourgogne Franche-Comté) : thèse de doctorat d'université.

5.1.3 Activité de conseil aux professionnels de santé

Comme par le passé, le CNR des virus des gastro-entérites continue d'apporter son aide ou ses conseils aux établissements publics, aux établissements de soins ou d'hébergement (publics ou privés), aux administrations qui lui en font la demande.

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

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Le CNR participe régulièrement aux groupes de travail de l'**ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament)** et à l'**ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail)**. Le CNR apporte ponctuellement son expertise auprès d'autres agences nationales telle que l'HAS.

Haute Autorité de Santé (HAS) : dans le cadre de la révision du dossier de recommandation de la vaccination anti-rotavirus, le CNRvge a été sollicité en 2022 pour fournir un dossier épidémiologique sur la circulation des rotavirus et leur génotype en France. Ces données ont permis d'étayer le dossier d'expertise et d'aider l'HAS dans sa prise de décision concernant la réintroduction des vaccins contre rotavirus en France, leur recommandation et leur remboursement.

Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) : le responsable du CNRvge a été membre titulaire du groupe de travail « sécurité virale » dès 2018 puis membre titulaire du Comité Scientifique Permanent « Sécurité et Qualité des Médicaments », section « sécurité virale et sécurité microbiologique » depuis 2019 où il est intervenu à plusieurs reprises afin d'élaborer des recommandations pour la sécurisation des dons de transplantation de microbiote fécal (TMF).

Haut Conseil Santé Public : Le CNR des virus des gastro-entérites répond à la demande des autorités lorsque le sujet concerne son domaine de compétence.

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

6.1 Activités de recherche

6.1.1 Travaux en cours d'étude

- **Surveillance des souches de rotavirus du groupe A** et de leur dérive antigénique dans un contexte vaccinal chez l'enfant grâce à Réseau National Rotavirus étendu. 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. Ces dernières années, nous avons étudié l'évolution du nouveau norovirus GII.17 aussi bien sur le plan antigénique qu'épidémiologique. L'émergence des GII.17 n'a duré que deux ans, ce génotype a alors cédé sa place au GII.4. De la même façon, nous allons travailler sur le variant GII.4 Sydney. Un des objectifs est de déterminer quels facteurs favorisent l'émergence de nouveaux norovirus et font le succès des norovirus GII.4. Comme pour les rotavirus, nous allons concentrer nos efforts sur l'incidence des norovirus chez les personnes de phénotype non-sécréteur.
- **Surveillance des cas d'infections aux nouveaux astrovirus recombinants MLB et VA** dans la population pédiatrique française. Pour rappel, ces virus pourraient représenter un quart 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 » émergents.** Une étude récemment achevée a permis de 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. L'apparition du SARS-CoV-2 a de nouveau démontré la pertinence de la surveillance des virus émergents. Le laboratoire continuera d'effectuer une surveillance accrue du SARS-CoV2 et des autres coronavirus dans les selles mais aussi dans l'environnement. S'agissant de l'environnement, le CNRvge est associé avec le Laboratoire Départemental de la Côte d'Or (Dr. Eric GUENEAU) pour la détection du SARS-CoV-2 et des principaux virus entériques dans les eaux usées de collectivités (EHPAD et groupe scolaire).

6.1.2 Travaux en cours de finalisation

1/ Application of integrated cell culture-RT-qPCR for the detection and quantification of infectious of AiV-1 in concentrated surface water and drinking water samples in Tunisia over a 2-year period

Abstract: Aichi virus 1 (AiV-1) is a human enteric virus from the Kobuvirus genus of the Picornaviridae family. It has been proposed as a causative agent of human gastroenteritis. AiV-1 is identified in recent environmental studies with higher frequency and greater abundance than other human enteric viruses. These findings suggest that AiV-1 could potentially be an appropriate indicator of environmental viral contamination and this emerging virus is potentially associated with water and food borne infections. In this study, we performed a quantitative TaqMan real-time PCR analysis of AiV-1 on water samples (n=450) including surface water and drinking water from drinking water treatment plants (WTPs) in Tunisia. Water samples were collected, filtered, concentrated and AiV-1 was detected by real-time PCR. We evaluated the infectivity of AiV-1 particles in water samples through a newly developed integrated cell culture and real-time quantitative reverse transcription PCR (ICC-RT-qPCR) assay. Samples containing particles of infectious AiV-1 were selected for sequencing and molecular characterization to evaluate circulating strains. The real-time RT-PCR screening assay showed that 85 of 450 (18.9%) water samples were positive for AiV-1 with a global reproducible mean Ct value of 23.1 ± 10.06 (range 4.0 - 39.4). ICC-RT-qPCR revealed that 15 of these 85 (17.6%) samples were positive for infectious AiV-1. Infectious AiV-1 particles were detected at mean concentrations (quantity) ranging from 0.31 to 2.14×10^9 copies/mL by qRT-PCR. Phylogenetic analysis revealed that 12 of our 15 sequences clustered within genotype A. This is the first quantitative report of AiV-1 in drinking water in our country and worldwide. These data demonstrated that the contamination of AiV-1 in environmental water may constitute a potential public health risk. Our study established a practical assay for widespread monitoring studies of aquatic environments for viral contamination and provided meaningful data for human waterborne viral risk assessment.

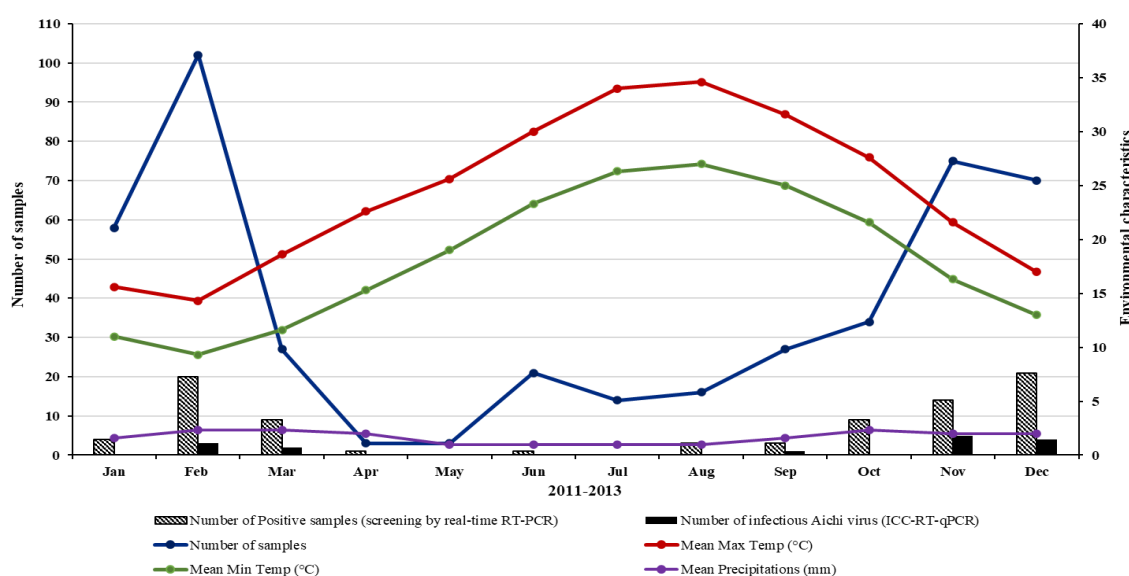


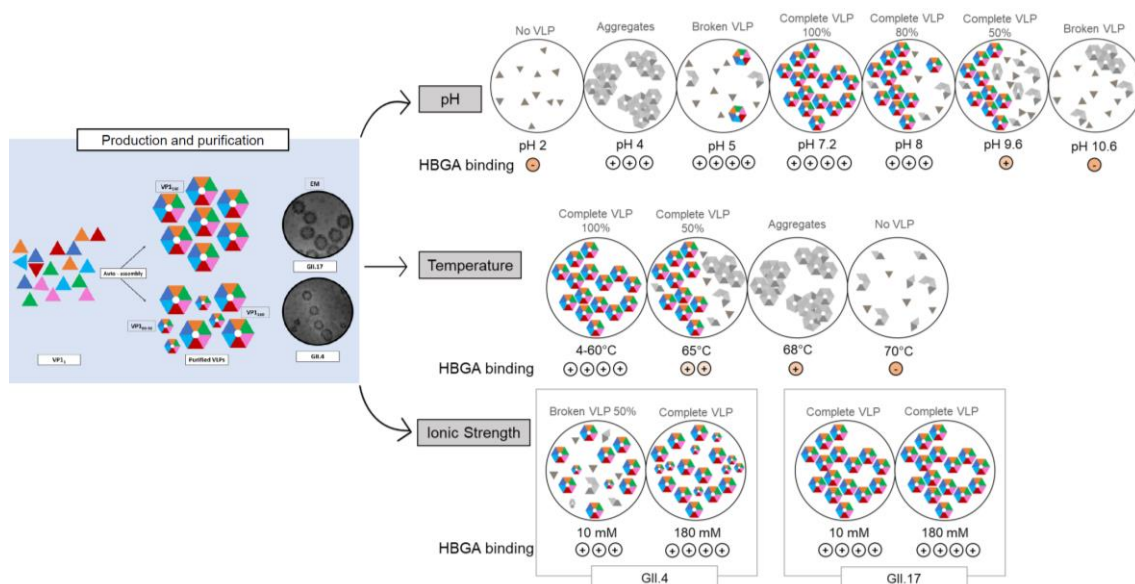
Fig. Average monthly number for water AIV-1 contamination and average environmental characteristics: rainfall (in cm), a mean maximal and minimal temperature (in °C) in 2010–2013 in Tunisia.

2/ Design of a new hybrid material: silicate human norovirus-like particles for biomedical and agri-food uses

Abstract: Human norovirus (HuNoV) is the main etiological agent of viral gastroenteritis with over 600 million cases per year, worldwide. HuNoV are nonenveloped viruses of 35–40 nm in diameter. The positive single strand RNA genome is protected by an icosahedral capsid, which is composed of 180 protomers of the VP1 protein. HuNoV culture is tedious and alternative tools have been implemented, such as the synthesis of non-infectious Virus-like particles (VLPs) in baculovirus, which allows the self-assembly of VP1 protomers into VLPs. Those VLPs present biological properties similar to those of native virions and can be used as a platform for the development of new delivery systems for therapeutic or agri-food purposes. In this study, the design of a silica-protein structure is proposed, by reinforcing and stabilizing GII.17 VLPs by an external mineralization using silica precursors, while retaining their biological properties, in particular their attachment to their natural ligands, the histo blood group antigens. Here, the influence of pH, ionic strength, and temperature on the stability of GII.17 VLPs are investigated using biological and physicochemical characterizations such as ELISA, DLS, TEM and UV-Visible spectroscopy. GII.17 VLPs are stable at pH 7.2, from 10 to 180 mM and at 4°C and have a diameter of 35 nm. VLPs were mineralized with silica precursors (TEOS and APTES) by sol-gel process after activating carboxylic amino acids on GII.17 surfaces using coupling agents (EDC/NHS). The data show that the mineralized particles were 45 nm in diameter, and a thicker and disordered silica layer was obtained with a higher concentration of TEOS and an increased reaction time. No silica was condensed on the surface of the VLPs without activating the carboxylic groups on the VLPs. This preliminary study showed promising results for the development of new tracers/surrogates for the food industry and medical purpose.

3/ Biological and physico-chemical characterization of human norovirus-like-particles under different environmental conditions

Abstract: Human noroviruses (HuNoVs) are predominant etiological agent of viral gastroenteritis in all age groups, worldwide. Mutations over the years affected noroviruses' responses to environment conditions due to arrangement of amino acid residues exposed on the capsid surface VP1 of each strain. Genotype GII.4 among HuNoVs has been the predominant variant for decades while GII.17 genotype was often detected in East Asia since 2014. Here, GII.17 and GII.4 baculovirus-expressed VLPs were used to study the biological (binding to HuNoV ligand, namely the ABO and Lewis antigens) and physicochemical properties (size, morphology, and charge) of the HuNoV capsid under different conditions (temperature, pH, and ionic strength). We demonstrated that GII.17 and GII.4 VLPs do not seem to follow a common mechanism of unfolding and disassembly. GII.17 showed a stability at lower and higher ionic strength while GII.4 aggregated at 10 mM ionic strength. The nature of the buffers influences the morphology and the stability of the VLPs. Here, both VLPs were highly stable from a pH 7 to 8.5 at 25°C. At acidic and basic pH, VLPs formed aggregates, which, in some cases, still recognized HBGAs. Increasing the temperature above 65°C altered the morphology of VLPs causing aggregation and decreased the affinity to HBGA. Comparing both isolates, GII.17 showed a better stability profile and higher affinity towards HBGA than GII.4, making them interesting candidate particles for a future norovirus vaccine. The biological and physicochemical studies of the VLP are pertinent as ever with the coming of future VLP-based HuNoV vaccines.



6.1.3 Travaux publiés

1/ Intestinal Norovirus Binding Patterns in Nonsecretor Individuals

Abstract: Human norovirus (HuNoV) infection is associated with an active FUT2 gene in secretor individual. However, nonsecretor individuals are also affected by HuNoV infection although in a lesser proportion. Here, we studied GII.3, GII.4, and GII.17 HuNoV interactions in nonsecretor individuals using virus-like particles (VLPs). Only GII.4 HuNoV specifically interacted with nonsecretor saliva. Competition experiments using histo-blood group antigen (HBGA)-specific monoclonal antibodies (MAbs) demonstrate that GII.4 VLPs recognized the Lewis a (Le^a) antigen. We also analyzed HuNoV VLP interactions on duodenum tissue blocks from healthy nonsecretor individuals. VLP binding was observed for the 3 HuNoV genotypes in 10 of the 13 individuals, and competition experiments demonstrated that VLP recognition was driven by an interaction with the Le^a antigen. In 3 individuals, binding was restricted to either GII.4 alone or GII.3 and GII.17. Finally, we performed a VLP binding assay on proximal and distal colon tissue blocks from a nonsecretor patient with Crohn's disease. VLP binding to inflammatory tissues was genotype specific since GII.4 and GII.17 VLPs were able to interact with regenerative mucosa, whereas GII.3 VLP was not. The binding of GII.4 and GII.17 HuNoV VLPs was linked to Le^a in regenerative mucosae from the proximal and distal colon. Overall, our data clearly showed that Le^a has a pivotal role in the recognition of HuNoV in nonsecretors. We also showed that Le^a is expressed in inflammatory/regenerative tissues and interacts with HuNoV in a nonsecretor individual. The physiological and immunological consequences of such interactions in nonsecretors have yet to be elucidated.

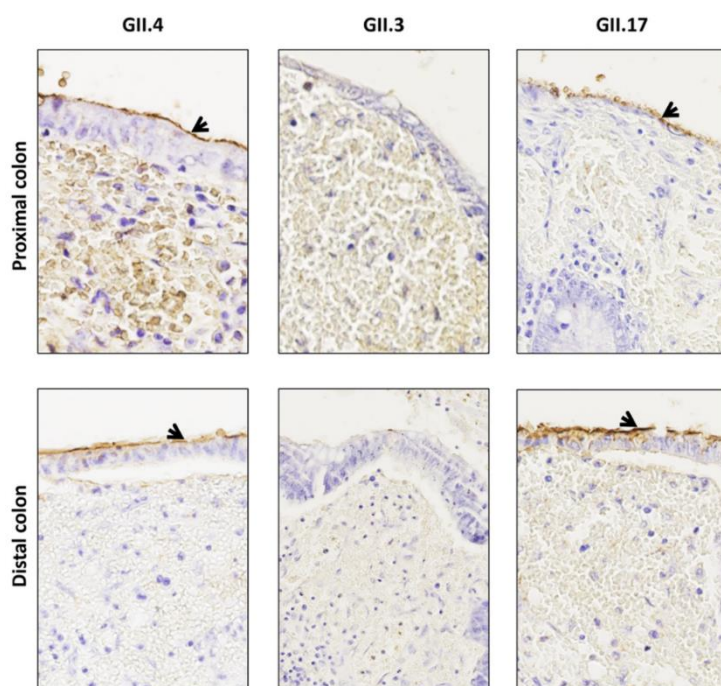


Fig. VLP detection in regenerative mucosa of samples of proximal and distal colon from nonsecretor Crohn's disease patient 14NS (magnification, 400). The anatomical sites of each sample are indicated on the left. The VLP genotype is indicated on the top (row). Positive VLP detection is indicated by brown staining and pointed by arrows.

2/ Epidemiological impact of GII.17 human noroviruses associated with attachment to enterocytes

Abstract: For the last 30 years, molecular surveys have shown that human norovirus (HuNoV), predominantly the GII.4 genotype, is one of the main causative agents of gastroenteritis. However, epidemiological surveys have revealed the worldwide emergence of GII.17 HuNoVs. Genetic analysis confirmed that GII.17 strains are distributed into three variants (i.e., Kawasaki 308, Kawasaki 323, and CS-E1). Here, virus-like particles (VLPs) were baculovirus-expressed from these variants to study putative interactions with HBGA. Qualitative analysis of the HBGA binding profile of each variant showed that the most recent and predominant GII.17 variant, Kawasaki 308, possesses a larger binding spectrum. The retrospective study of GII.17 strains documented before the emergence of the dominant Kawasaki 308 variant showed that the emergence of a new GII.17 variant could be related to an increased binding capacity toward HBGA. The use of duodenal histological sections confirmed that recognition of enterocytes involved HBGA for the three GII.17 variants. Finally, we observed that the relative affinity of recent GII.17 VLPs for HBGA remains lower than that of the GII.4-2012 variant. These observations suggest a model whereby a combination of virological factors, such as polymerase fidelity and increased affinity for HBGA, and immunological factors was responsible for the incomplete and non-persistent replacement of GII.4 by new GII.17 variants.

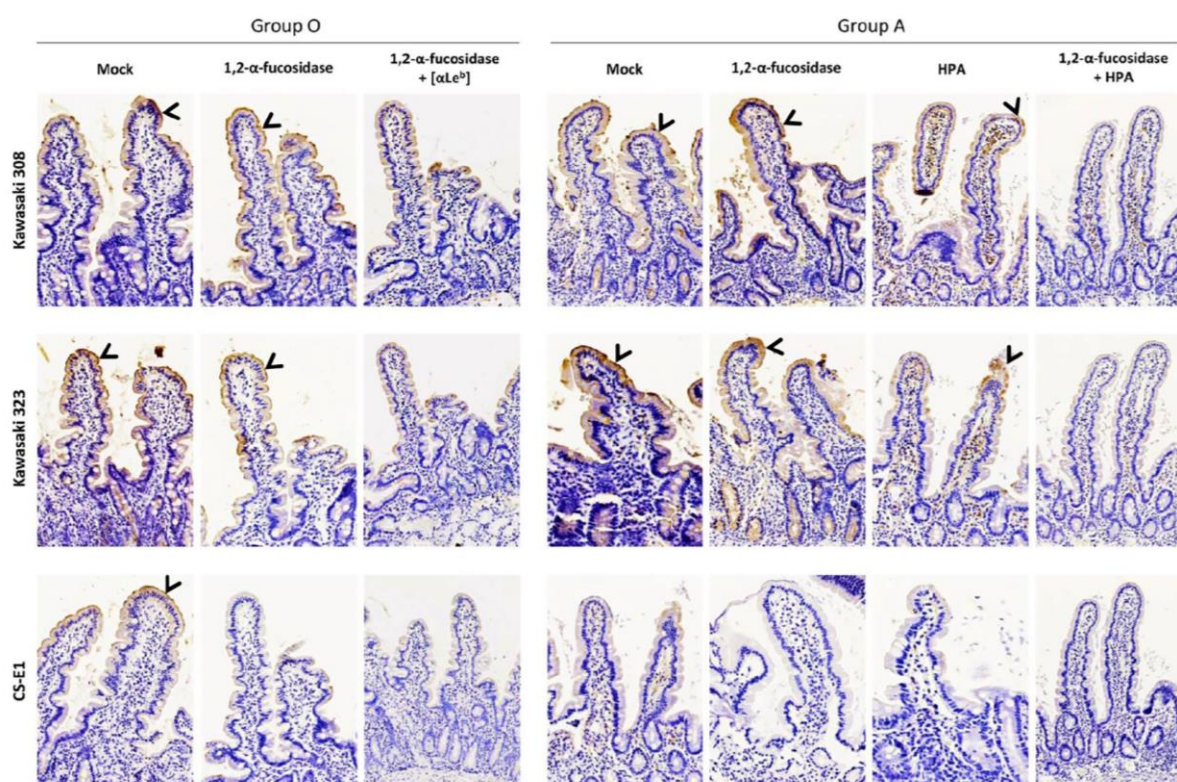
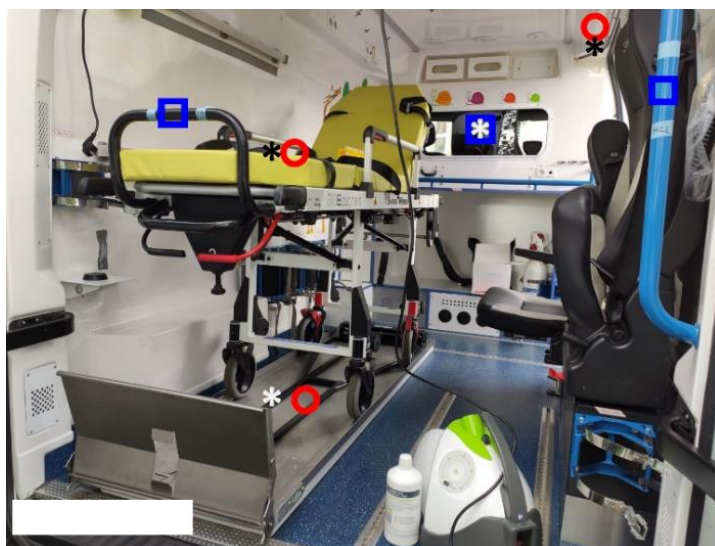


Fig. Histological analysis on duodenal sections of GII.17 recognized by HBGA. Duodenal tissue samples from group O and A individuals were used for VLP binding assays and competition experiments where sections were singly or concomitantly incubated with 1,2- α -L-fucosidase, Leb-specific mAb (anti-Leb) and HPA. Patient blood group and GII.17 variant are indicated above the panel series. For the competition experiments, fucosidase, mAb, and lectin are indicated on the left side of each panel series. Positive VLP detection is featured by brown staining and indicated by arrowheads on all images.

3/ Use of an hydrogen peroxide nebulizer for viral disinfection of emergency ambulance and medical waiting room.

Abstract: Disinfection of hospital facilities and ambulances is an important issue for breaking the chain of transmission of viral pathogens. Hydrogen peroxide has provided promising results in laboratory assays. Here, we evaluate the efficacy of a hydrogen peroxide nebulizer for the inactivation of surrogate MS2 bacteriophage and murine norovirus (MNV) in a patient waiting room and the fully equipped cabin of a medical ambulance. We observed an average 3 log₁₀ titer reduction in both settings, which represents the destruction of over 106 and 109 infectious particles of MNV and MS2 per cm², respectively. The potential for viral exposure is high for health workers when disinfecting confined and cluttered spaces, so the use of a hydrogen peroxide mist might offer an affordable and efficient solution to minimize the risk of viral contaminations.

Ci-contre : intérieur de la cabine d'une ambulance d'urgence pédiatrique avec nébuliseur situé dans le coin inférieur droit. Les substituts viraux ont été placés sur l'étagère supérieure, sous et sous la civière (cercle rouge). Le carré bleu indique le balayage pour la détection du génome du SARS-CoV-2. Les astérisques blancs et noirs indiquent les emplacements des bandelettes de test. Certains points désignés pour les bandelettes de test et le balayage ne sont pas visibles sur l'image.



4/ Dynamics of norovirus genotype change and early characterization of variants in Tunisian children with diarrhea over a 12-year period

Human noroviruses (HuNoVs), especially GII.4 strains, are a major cause of gastroenteritis epidemics in both children and adults. Stool samples were collected from 113 Tunisian children with acute gastroenteritis in 2001 and 2002 and were retrospectively tested for HuNoVs. Fifteen (13.2%) of the 113 samples were positive for HuNoVs, all of which were genogroup II strains, and the GII.4-2004/Hunter variant was predominant (67%). We reconstituted the temporal circulation of HuNoV strains in central Tunisia between 2003 and 2012 using HuNoV isolates reported in our previous studies. A comparative analysis showed a dynamic change in the molecular profile of the HuNoV strains over a 12-year period. We found that GII.4-2004/Hunter strains were circulating as early as June 2002 and that GIX.1[GII.P15] HuNoVs were already circulating four years before this genotype was first reported in Japan in 2006. Our data suggest that epidemic strains of HuNoV circulate for several years in the pediatric population before becoming predominant. This study suggests that children from low-income countries with poor sanitation may play a significant role in the molecular evolution of noroviruses and the global emergence of new epidemic strains.

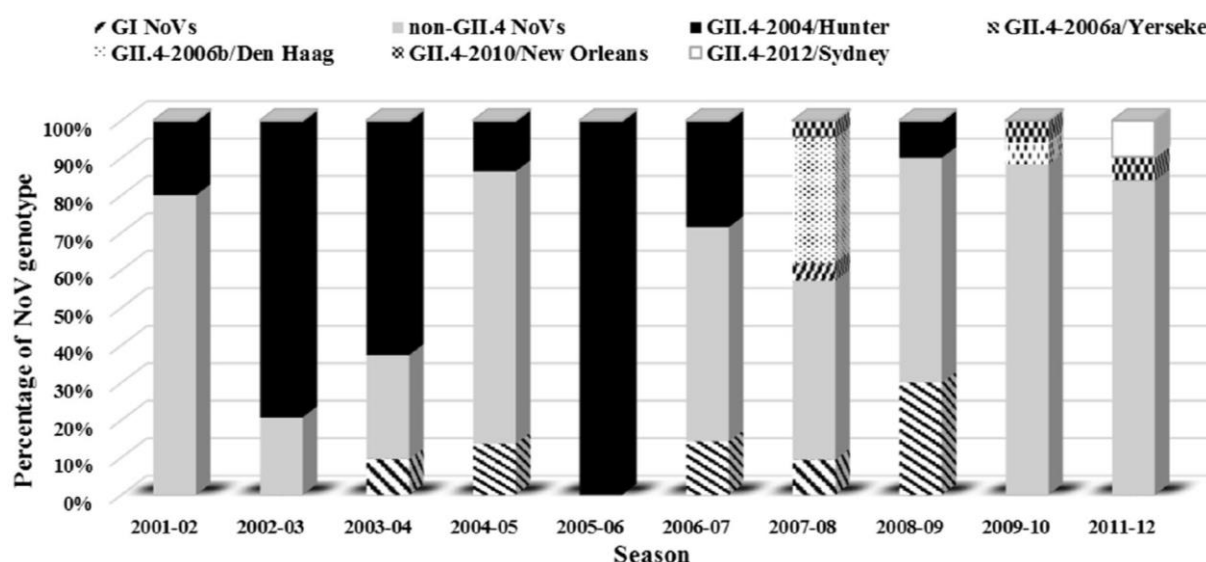


Fig. The yearly distributions of norovirus strains in Tunisia between 2001 and 2012

6.2 Liste des publications et communications

6.2.1 Publications internationales

- G Tarris, **M Estienney**, P Daval-Frérôt, AC Lariotte, D Aubignat, K Sé, C Michiels, L Martin, **A de Rougemont, G Belliot**. Intestinal norovirus binding patterns in non-secretor individuals. *J. Virol.*, 2022;96(19):e0086522. **(IF=6.549)**
- **M Estienney**, G Tarris, A Rouleau, S Ayouni, P Daval-Frérôt, LS Aho-Glélé, L Martin, W Boireau, J le Pendu, **A de Rougemont, G Belliot**. Attachment to the enterocytes is related to genetic drift for newly emerged GII.17 human norovirus. *Frontiers Microbiol*, 2022. **(IF=6.064)**
- **M Estienney**, P Daval-Frérôt, LS Aho-Glélé, L Piroth, P Stabile, JY Gerbet, R Rouleau, **A de Rougemont, G Belliot**. Use of an hydrogen peroxide nebulizer for viral disinfection of emergency ambulance and medical waiting room. *Food Environ Viro*, 2022. **(IF=4.034)**
- K Sdiri-Loulizi, A Khachou, S Ayouni, H Khelifi, D Elhani, **K Ambert-Balay**, A Rhim, **J Kaplon**, N Sakly, M Aouni, **A de Rougemont**. Dynamics of norovirus genotype change and early characterization of variants in Tunisian children with diarrhea over a 12-year period. *Archiv Virol*, 2022; 167(1):99-107. **(IF=2.685)**

6.2.2 Communications internationales

- N Abou-Hamad, **M Estienney**, R Chassagnon, **A de Rougemont**, S Guyot, F Bouyer, **G Belliot**. Design of a new hybrid material: silicate human norovirus-like particles for biomedical and agri-food uses. *7th International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials, Genoa, Italy, October 2022. Affiche.*

6.2.3 Ouvrages didactiques

- **A de Rougemont**, A Garbarg-Chenon, **J Kaplon**. Tome 2, Chapitre 94 : « Autres virus des gastro-entérites ». In *REMIC V7, Référentiel en microbiologie médicale, 7^e édition*, 2022
- A Garbarg-Chenon, **A de Rougemont, J Kaplon**. Tome 2, Chapitre 93 : « Rotavirus ». In *REMIC V7, Référentiel en microbiologie médicale, 7^e édition*, 2022
- S Bonacorsi, S Le Hello, **A de Rougemont**. Tome 1, Chapitre 21 : « Gastro-entérites ». In *REMIC V7, Référentiel en microbiologie médicale, 7^e édition*, 2022

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

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

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

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

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

LDCO - Laboratoire Départemental de Côte d'Or, 2T Rue Hoche, F-21000 DIJON (Dr Eric GUENEAU).

7.2 Coopérations dans le cadre de projets de recherche

7.2.1 Coopérations universitaires

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

Notre équipe participe à l'étude du pouvoir pathogène des virus persistants dans l'environnement et les facteurs de stress qui y sont associés et sur l'optimisation de leur destruction au cours de traitements technologiques tout aussi bien applicable dans les secteurs de l'agro-alimentaire, de l'hygiène et de la clinique. Les travaux mettent en œuvre des stratégies et des outils performants et adaptés à cette approche dont des outils moléculaires de détection, de caractérisation et de quantification des virus dans l'environnement et différents types de matrices ; la production et la purification d'antigène et de particule de synthèse en système bactérien et en baculovirus ; ou encore la génétique inverse, la mutagenèse et l'expression de gènes.

7.2.2 Projets divers

Projet européen OXYVIR et OXYVIR 2

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

Ces projet OXYVIR portent sur la survie des norovirus et l'étude de leur pouvoir infectieux en conchyliculture et en particulier en ostréiculture. Dans le cadre de ce projet, le CNRvge apporte son expertise scientifique et technologique sur les norovirus et l'utilisation de particules virales de synthèse (VLP). OXYVIR2 reposent en particulier sur la maîtrise des techniques complexes de culture des norovirus sur larves de poisson zèbre (*Danio rerio*) que nous développons depuis 2020 et nous sommes en cours d'acquisition des techniques de culture sur entéroïdes. L'objectif est de pouvoir discerner le risque infectieux

réel chez les huitres norovirus-positives en PCR, et ainsi éviter la destruction inutile des productions (actuellement 8.000 tonnes par an).

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

Projets régionaux

Divers projets ont été lancés :

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

7.2.3 Collaborations avec l'INRA

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

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

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.

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.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Activités d'expertise

8.1.1 Réseaux de partenaires et collaborations

Nous poursuivrons les partenariats engagés durant les années précédentes.

- **Réseaux nationaux et collaborations :**

- SPF et les CIRE en région.
- Réseau sentinelle.
- Le réseau d'hôpitaux participant à la surveillance des rotavirus en France (services de pédiatrie et de virologie) avec le montage d'un PHRC national si les vaccins sont de nouveau recommandés.
- Les autres laboratoires de référence : **CNR des Hépatites A et E**, **CNR des entérovirus**, **IFREMER**, **ANSES**-Unité de Virologie des Aliments et de l'eau.
- Les services hospitaliers des CH et CHU, services d'hygiène des établissements de soins.

- **Réseaux internationaux :**

- Réseau mondial de surveillance des norovirus : **Noronet**.
- Réseau Européen de surveillance des rotavirus : **EuroRotaNet**.
- Collaboration avec les Pays du Sud

8.1.2 Développement de techniques

- **Développement du NGS :** fort de nos collaborations et de notre expérience, le développement du **séquençage haut débit** pour la détection des virus entériques dans les selles est une priorité technologique. Nous tâcherons de développer, en plus du séquençage de génome complet, la détection pan virale des virus entériques à génome ARN dans les selles. Une approche métagénomique sera également développée avec l'aide d'un ingénieur bio-informaticien.
- **Détection de nouveaux virus impliqués ou suspectés dans les gastro-entérites humaines :** notre attention se portera notamment sur la mise en routine de techniques de détection de virus émergents et permettre leur évaluation dans le cadre des GEA : trois nouveaux *Pirconaviridae* avec deux nouveaux genres, *Cosavirus* (*common stool virus*) et *Salivirus* (*stool aichi-like virus*), le virus Saffold (*Cordiovirus*) ; et deux nouveaux *Protoparvoviridae*, les bufavirus et tusavirus.

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 selles comprenant des virus caractérisés, des gènes clonés et des pseudo-particules virales (VLP), des hybridomes et des 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 selles.
- cette collection est conservée dans le Centre de Ressources Biologiques (CRB) Ferdinand-Cabanne (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'aliquotes dans les enceintes froides à -40°C ou -80°C.

- **Mise à disposition des collections :**

- de souches caractérisées, de VLP et d'anticorps conservés dans notre CNR et au CRB « Ferdinand Cabannes » du CHU Dijon Bourgogne.
- 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, mais seront non cessibles.

- 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

Divers industriels (BioMérieux, R-Biopharm, Operon, Diasorin, Diagenode, Certest Biotec et Mobidiag) nous sollicitent régulièrement pour évaluer leurs réactifs de diagnostic des virus responsables de gastro-entérites qu'ils soient nouveaux ou une nouvelle version. En effet, 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 représenteront un atout pour de futures évaluations ou collaborations avec ces industriels.

• Évaluations futures

Nous poursuivrons les évaluations des nouveaux réactifs de diagnostic comme précédemment. De nouvelles évaluations de réactifs seront entreprises pour 2023 notamment avec la société Elitech. Ces évaluations régulières nous permettent de **conseiller nos collègues biologistes dans leur choix lors des appels d'offre et de s'assurer de la qualité des réactifs du marché.**

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. Nous transférons cependant des **pseudo-particules de synthèse (VLP)** de norovirus à la demande de certaines équipes de recherche. Nous transférons également notre savoir-faire sur la culture des norovirus murins et assurons des formations sur le modèle poisson-zèbre pour la mise en culture des norovirus humains. Néanmoins, **nos procédures sont disponibles** et nous assurerons un **soutien technique à distance**. Ces processus sont principalement adaptés aux virus moins fréquents 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. Nous poursuivrons dans les prochaines années à fournir ces témoins positifs **sous forme d'abonnement annuel**.

8.1.6 Travaux de recherche en lien avec les missions du CNR des virus des gastro-entérites

8.1.6.1 Recherches et surveillances épidémiologiques des virus entériques

- **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 Réseau National Rotavirus étendu. 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.
- **Poursuite de la surveillance des souches de norovirus épidémiques** et l'émergence de nouveaux variants/génotypes dans la population. Ces dernières années, nous avons étudié l'évolution du nouveau norovirus GII.17 aussi bien sur le plan antigénique qu'épidémiologique. L'émergence des GII.17 n'a duré que deux ans, ce génotype a alors cédé sa place au GII.4. De la même façon, nous allons travailler sur le variant GII.4 Sydney. Un des objectifs est de déterminer quels facteurs favorisent l'émergence de nouveaux norovirus et font le succès des norovirus GII.4. Comme pour les rotavirus, nous allons concentrer nos efforts sur l'incidence des norovirus chez les personnes de phénotype non-sécréteur.
- **Poursuite de la surveillance des cas d'infections aux nouveaux astrovirus recombinants MLB et VA** dans la population pédiatrique française. Pour rappel, ces virus pourraient représenter un quart 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 » émergents.** Une étude récemment achevée a permis de 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. L'apparition du SARS-CoV-2 a de nouveau démontré la pertinence de la surveillance des virus émergents. Le laboratoire continuera d'effectuer une surveillance accrue du SARS-CoV2 et des autres coronavirus dans les selles mais aussi dans l'environnement. S'agissant de l'environnement, le CNRvge est associé avec le Laboratoire Départemental de la Côte d'Or

(Dr. Eric GUENEAU) pour la détection du SARS-CoV-2 et des principaux virus entériques dans les eaux usées de collectivités (EHPAD et groupe scolaire).

8.1.6.2 Recherches fondamentales sur les virus des gastro-entérites

- **Étude des interactions virus-environnement chez norovirus et rotavirus.** Le laboratoire continue de travailler en collaboration avec le groupe ACTIA et le LCPME de l'université de Nancy sur la survie des norovirus et son pouvoir infectieux dans les huîtres. Ces travaux font en particulier appel aux travaux que nous avons menés sur les poissons zèbres comme système de culture des norovirus humains. L'objectif est d'évaluer l'utilisation de ce modèle pour étudier le caractère infectieux des norovirus dans l'environnement. Le laboratoire sera prochainement impliqué dans l'analyse des fermentas pour la présence des virus entériques.
- **Mise en place de la culture d'organoïdes.** L'usage des organoïdes, et surtout des entéroïdes, est récent dans l'étude des virus des gastro-entérites. Bien qu'imparfait, les entéroïdes est un des rares systèmes permettant la réplication des norovirus humains. Ce système a plusieurs intérêts, il permet en particulier de déterminer le potentiel infectieux à partir d'échantillons cliniques, environnementaux ou agroalimentaires des norovirus humains. L'usage des organoïdes est également intéressant dans le cadre de recherche plus fondamentale. Dans la continuité de nos travaux sur les relations MICI/norovirus, nous avons amorcé une collaboration avec l'équipe INSERM U1220 de Toulouse dirigé par le Docteur VERGNOLLES, spécialisée dans la genèse et l'étude des organoïdes. L'équipe propose ainsi des organoïdes « pathologiques » reflétant la physiologie de la maladie de Crohn. Nous espérons ainsi étudier *in vitro* les interactions des norovirus avec les tissus intestinaux et décortiquer les mécanismes impliquant les antigènes tissulaires des groupes sanguins (HBGA).
- **Étude de la stabilité des pseudo-particules des norovirus.** De nombreuses équipes se sont engagées depuis quelques années sur la fabrication d'un vaccin contre les norovirus humains. Il semble que l'usage de pseudo-particules de norovirus soient le meilleur candidat pour ce vaccin. Le CNRVge possède un savoir-faire important sur la production en baculovirus de pseudo-particules virales (VLP) dérivées des norovirus. Nous avons ainsi commencé un travail sur la stabilité physico-chimique des VLP, principalement des norovirus GII.4. Cette étude a pour but de déterminer quelles sont les meilleures conditions de stockage et d'administration des VLP sans dégradation et en préservant leurs propriétés biologiques.
- **Étude des couples bactéries/virus.** Ces travaux ont pour objectif d'étudier la survie des virus entériques en prenant les norovirus comme modèle. À la lumière de la littérature, certaines bactéries comme *Enterobacter cloacae* permettraient l'arrimage des norovirus par le biais d'antigène analogue aux antigènes de groupe sanguin de type A. L'objectif de ces travaux, menés conjointement avec l'Institut Agro Dijon (ex-AgroSup), sera de déterminer si la survie des norovirus et leur pouvoir infectieux sont maintenus, voir accrus, avec ce système de navette bactérienne dans les matrices alimentaires et dans les échantillons cliniques.
- **Étude des interactions norovirus murins et céréales.** Le laboratoire utilise depuis plusieurs années le norovirus murin comme substitut cultivable des norovirus humains. Le norovirus murin est également un pathogène en médecine vétérinaire. Il fait ainsi l'objet de recherche en routine dans les animaleries hébergeant des rongeurs (rat et souris). La contamination se produit par le biais de l'alimentation des rongeurs composée de céréales souillées par les déjections de rongeurs. De par notre savoir-faire, nous avons amorcé une collaboration avec un fournisseur de nourriture pour rongeurs pour l'étude des interactions du norovirus murin avec différents types de céréales et éventuellement leur élimination par différents traitements (vapeur, ionisation).
- **Vésicule lipidique porteuse d'antigène.** En collaboration avec l'ENS de Lyon, le CNRVge est impliqué dans la fourniture de rotavirus humain et simien, adaptés à la culture cellulaire, pour la fabrication de vésicule lipidique affichant les antigènes viraux. L'objectif sera de déterminer l'hypothèse qu'une enveloppe est un vecteur immunogène efficace.