



**Dossier scientifique de candidature  
2012 – 2016**

**Centre National de Référence  
des virus entériques  
(entérovirus exclus)**

**Bilan d'activité 2006 – 2010  
et programme 2012 - 2016**

**Responsable : Professeur Pierre POTHIER  
Laboratoire de Virologie  
CHU de Dijon**

***Avril 2011***

**Dossier scientifique de candidature  
2012 – 2016**

**Centre National de  
Référence des virus entériques  
(entérovirus exclus)**

**Laboratoire de Virologie du CHU de Dijon**

*Site web :*

<http://www.chu-dijon.fr/page.php?url=directory/centre-national-de-referance-des-virus-enteriques%20>

*Accessible à l'aide des moteurs de recherche – Google et autres - avec la dénomination  
« CNR des virus entériques »*

**Bilan d'activité 2006 – 2010  
et programme 2012 - 2016**

**Responsable :** Professeur Pierre POTHIER

**Collaborateurs (2010 - 2016) :**

Docteur Katia BALAY

Docteur Gaël BELLIOU

Docteur Davide AGNELLO

Docteur Alexis DE ROUGEMONT

**Avril 2011**

## SOMMAIRE

<b>A.</b>	<b>FICHE D'IDENTITE DU LABORATOIRE</b> .....	<b>1</b>
<b>B.</b>	<b>INTRODUCTION ET PRESENTATION</b> .....	<b>2</b>
	1. ETAT DE LA QUESTION ET ENJEUX DE SANTE PUBLIQUE.....	2
	2. MOTIVATIONS ET OBJECTIFS POUR LE MANDAT 2012 - 2016.....	3
<b>C.</b>	<b>DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE</b> .....	<b>4</b>
	1. ORGANISATION PROPOSEE .....	4
	2. DESCRIPTION DES MOYENS AFFECTES AU CNR VIRUS ENTERIQUES .....	5
	2.1. ORGANIGRAMME DU LABORATOIRE DE VIROLOGIE ET PLACE DU CNR.....	5
	2.2. RESSOURCES HUMAINES AFFECTEES AU CNR .....	6
	2.3. DESCRIPTION DES LOCAUX ET EQUIPEMENTS .....	7
	2.4. THEMATIQUES DE RECHERCHE DU LABORATOIRE .....	8
	2.5. CAPACITE TECHNIQUE DU CNR EN 2010.....	8
	2.5.1. Liste des techniques de référence disponibles .....	8
	2.5.2. Collection de souches, d'antigènes ou d'anticorps de référence .....	9
<b>D.</b>	<b>BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES</b> .....	<b>11</b>
	1. ACTIVITE D'EXPERTISE : 2006 - 2010.....	11
	1.1. EVALUATION DE TROUSSES DE DIAGNOSTIC PAR LE CNR .....	11
	1.2. EVALUATION DE PROCEDES VIRUCIDES .....	12
	1.3. INVESTIGATIONS VIROLOGIQUES DE CAS SPORADIQUES.....	12
	1.4. INVESTIGATIONS VIROLOGIQUES DES EPIDEMIES .....	13
	1.5. PRINCIPALES SOUCHES VIRALES CARACTERISEES LORS DE CES EPIDEMIES .....	14
	1.6. CARACTERISTIQUES DES 763 GASTROENTERITES COLLECTIVES (2006 – 2010).....	15
	1.7. CONCLUSION DES ACTIVITES D'EXPERTISE.....	17
	2. ACTIVITE DE SURVEILLANCE .....	18
	2.1. SURVEILLANCE MOLECULAIRE DES ROTAVIRUS EN MILIEU PEDIATRIQUE HOSPITALIER.....	18
	2.1.1. Réseau de partenaires et répartition géographique.....	18
	2.1.2. Principaux résultats 2006 - 2010 .....	18
	2.2. SURVEILLANCE MOLECULAIRE DES GASTROENTERITES COMMUNAUTAIRES .....	28
	2.2.1. Fréquence de détection des virus .....	28
	2.2.2. Distribution des virus selon les groupes d'âge .....	28
	2.2.3. Distribution des génotypes des rotavirus et norovirus .....	30
	2.2.4. Conclusions.....	30
	2.3. DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES.....	31
	2.3.1. Réseau de partenaires et répartition géographique.....	31
	2.3.2. Caractéristiques des épidémies (2006-2010) .....	32
	2.4. CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX .....	40
	2.4.1. Réseaux internationaux «FBVE-Net », « NoroNet » et « EuroRotanet » .....	40
	2.4.2. Collaborations « Egypte - Tunisie - Algérie - Maroc » (2006-2010) .....	40
	2.4.3. Collaborations « Iran – Niger – Burkina Faso » (2010-2011).....	41
	2.4.4. Collaboration avec le Réseau International des Instituts Pasteur .....	41
	2.4.5. Contributions de notre laboratoire (2010-2011) .....	41
	2.5. ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE.....	42
	2.5.1. Epidémiologie des rotavirus dans les crèches de Lyon (2007-2008).....	42
	2.5.2. Efficacité des désinfectants et antiseptiques sur le norovirus murin (2008).....	42
	2.5.3. Comparaison de la sévérité des gastroentérites selon le génotype de rotavirus (2009-2010).....	42
	2.5.4. Virus Aichi : études virologique et épidémiologique (2008-2010).....	42
	2.5.5. Calicivirus bovin et nouveau génotype de <i>Nebovirus</i> (2010) .....	42
	2.5.6. Diarrhées chroniques à norovirus chez le transplanté (2010).....	43
	2.5.7. Etude des interactions norovirus-récepteurs glycanes (2010).....	43
	3. ALERTE.....	44
	3.1. CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC L'INVS .....	44
	3.2. PROCEDURES D'ALERTE DE L'INVS ET DES AUTRES PARTENAIRES.....	44
	3.2.1. Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (par une ARS, un laboratoire...):.....	44
	3.2.2. Annonce d'une épidémie via la base Voozanoo de l'InVS : .....	44
	3.2.3. Arrivée de prélèvements sans annonce préalable : .....	44

3.3. PROCEDURES DE TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS DES CAS GROUPE DE GEA .....	45
3.3.1. Procédures de traitement d'une épidémie.....	45
3.3.2. Protocoles d'envoi d'échantillons de selles.....	51
3.3.3. Formulaire accompagnant les envois.....	51
<b>4. ACTIVITE DE CONSEIL AUX PROFESSIONNELS OU AUX AUTORITES DE SANTE. INFORMATION ET FORMATION.....</b>	<b>56</b>
4.1. PARTICIPATION AUX COMMISSIONS SPECIALISEES ET ACTIVITE D'EXPERTISE.....	56
4.2. ACTIVITE DE CONSEIL :.....	56
4.3. ENCADREMENT DE STAGIAIRES : .....	56
<b>E. PUBLICATIONS, COMMUNICATIONS ET CONTRATS.....</b>	<b>58</b>
1. PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....	58
1.1. Publications nationales .....	58
1.2. Publications internationales.....	58
1.3. Communications nationales.....	61
1.4. Communications internationales .....	62
1.5. Conférences sur invitation.....	63
2. CONTRATS DE RECHERCHE LIES AUX ACTIVITES DU CNR .....	64
3. COLLABORATIONS.....	64
<b>F. DEMARCHE QUALITE DU LABORATOIRE .....</b>	<b>66</b>
<b>G. DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE .....</b>	<b>67</b>
1. TRANSMISSION DES DONNEES A L'INVS.....	67
1.1. Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo.....	67
1.2. Rendu des résultats à l'InVS .....	67
2. ANONYMISATION DES PRELEVEMENTS .....	67
<b>H. PROGRAMME DE TRAVAIL QUINQUENNAL : PERIODE 20012-2016.....</b>	<b>68</b>
1. EN TERMES D'EXPERTISE.....	68
1.1. Participation aux réseaux européens et mondiaux (FBVE et NoroNet, EuroRotaNet).....	68
1.2. Expertise diagnostique des virus entériques et standardisation des méthodes .....	68
1.3. Mise à disposition des protocoles et techniques de diagnostic.....	69
1.4. Evaluation des trousse diagnostiques des norovirus.....	69
1.5. Développement et diffusion des méthodes de diagnostic des norovirus.....	69
1.6. Diarrhées chroniques chez les transplantés.....	70
1.7. Surveillance des gastroentérites à rotavirus .....	70
1.8. Surveillance des gastroentérites à calicivirus (principalement norovirus) .....	71
2. CONTRIBUTION A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE .....	71
2.1. <a href="#">Partenariat et collaborations</a> (InVS, IFREMER, ANSES et CNR hépatites A et E):.....	71
2.2. Investigations des cas groupés de gastroentérites.....	71
2.2.1. Procédures d'investigation.....	71
2.2.2. Logistique, transport des échantillons.....	72
2.2.3. Bilans hebdomadaires CNR virus entériques-InVS-Réseau sentinelle.....	72
3. CONTRIBUTION A L'ALERTE .....	72
3.1. Procédures d'alerte de l'InVS.....	72
3.2. Alertes de l'InVS non programmées.....	72
4. ACTIVITE D'INFORMATION, FORMATION, CONSEIL.....	72
4.1. Colloques et réunions scientifiques.....	72
4.2. Site web.....	73
4.3. Activité de conseil.....	73
4.4. Activité de formation .....	73
<b>I. ANNEXE : PUBLICATIONS 2010.....</b>	<b>74</b>

## **A. FICHE D'IDENTITE DU LABORATOIRE**

### **Coordonnées du laboratoire candidat**

Laboratoire de Virologie  
Pôle de Biologie  
CHU de Dijon  
BP 37013  
2, rue Angélique Ducoudray,  
21070 Dijon Cedex, France

### **Nom et coordonnées du responsable scientifique**

Pr Pierre POTHIER  
Laboratoire de Virologie  
Pôle de Biologie  
CHU de Dijon  
BP 37013  
2, rue Angélique Ducoudray,  
21070 Dijon Cedex, France  
Téléphone : +33 (0)3 80 29 34 29 ou +33 (0)3 80 29 54 87  
Fax : +33 (0)3 80 29 32 80  
E-mail : [pierre.pothier@u-bourgogne.fr](mailto:pierre.pothier@u-bourgogne.fr)

### **Nom et coordonnées du responsable administratif**

Monsieur Pierre-Charles PONS  
Directeur Général  
CHU de Dijon  
BP 77908  
1, Boulevard Jeanne d'Arc,  
21079 Dijon Cedex, France  
Téléphone : +33 (0)3 80 29 35 75  
Fax : +33 (0)3 80 29 34 21  
E-mail : [pierre-charles.pons@chu-dijon.fr](mailto:pierre-charles.pons@chu-dijon.fr)

## B. INTRODUCTION ET PRESENTATION

### 1. ETAT DE LA QUESTION ET ENJEUX DE SANTE PUBLIQUE

Les gastroentérites représentent un problème de santé publique mondial avec une morbidité et mortalité importante. Dans les pays moins avancés sur le plan médical et de l'hygiène les gastroentérites virales sont la cause d'une très forte mortalité infantile avec environ 500 000 décès par an.

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

1. D'une part les **gastro-entérites infantiles**, principalement à **rotavirus**, cause d'une importante morbidité infantile ayant des répercussions financières sur les budgets de santé et économiques par les coûts indirects induits. Un **vaccin** protégeant contre les infections à rotavirus est disponible mais peu diffusé en France. Les questions relatives à sa recommandation ou non sont toujours d'actualité. Les rotavirus ont une très grande diversité génétique et ont montré une fluctuation géographique et temporelle imprévisible. La circulation de souches d'origine animale ou des combinaisons de génotypes inhabituels est faible en France et en Europe. Cependant, le **risque d'émergence de souches nouvelles** est réel. Cette émergence poserait un problème d'efficacité de la vaccination si ces génotypes ne présentaient pas de communauté antigénique avec les souches incluses dans le vaccin. Le CNR des virus entériques **participe activement à un réseau européen et anime un réseau national** pour une surveillance moléculaire des rotavirus qui lui permet d'estimer l'importance de ces souches inhabituelle et d'anticiper leur émergence.
2. Les épidémies de gastroentérites survenant dans des collectivités, principalement les **établissements hébergeant des personnes âgées**, qui sont majoritairement dues aux **norovirus**. Ces gastroentérites surviennent principalement l'hiver, elles sont fréquentes (jusqu'à 50% des établissements selon les épidémies), elles désorientent le fonctionnement des établissements. L'impact économique et social pour ces établissements reste à évaluer. Le mode de transmission de personne à personne, la résistance et la très faible dose infectieuse des norovirus rendent difficile la prévention de ces gastroentérites par les précautions standard d'hygiène. En outre, les norovirus du génogroupe II et du génotype 4 (GII.4) – le plus souvent impliqués - possèdent une étonnante capacité évolutive marquée par **l'apparition de nouveaux variants à l'origine de nouvelles épidémies**. Comprendre les mécanismes de cette évolutivité sera un de nos objectifs pour les années à venir.
3. Les épidémies de **gastroentérites d'origine alimentaire ou hydrique** sont également souvent dues aux **norovirus**. Mais à la différence des précédentes, les deux génogroupes sont impliqués. En outre, les co-infections avec plusieurs norovirus ou d'autres virus, notamment le virus Aichi lorsque l'origine est hydrique ou la consommation d'huîtres.
4. Enfin, les **diarrhées chroniques à norovirus chez les transplantés ou immunodéprimés**. Elles étaient attribuées à la toxicité de certains immunosuppresseurs. Mieux définies depuis peu, les norovirus semblent en être la principale cause. Elles ne représentent qu'un nombre limité de cas, mais les conséquences peuvent être graves pour le patient, insuffisance rénale aiguë ou rejet du greffon.

## 2. MOTIVATIONS ET OBJECTIFS POUR LE MANDAT 2012 - 2016

Les enjeux de santé publique présentés ci-dessus sont toujours d'actualité. La **surveillance et l'alerte** repose sur un réseau structuré permettant une bonne analyse de la situation nationale et européenne et une vigilance vis-à-vis de tout phénomène anormal permettant ainsi une anticipation des actions. La **participation de notre CNR à ces réseaux nationaux et européens sera poursuivie pour les prochaines années 2012 – 2016**. Ces réseaux nous permettent le partage des techniques et bases de données indispensables à notre **expertise technologique** (caractérisation des souches, alerte, optimisation des techniques...). Nos collaborations avec l'InVS et sur le terrain avec les délégations territoriales des ARS nous permettent aujourd'hui d'intervenir sur l'ensemble du territoire et dans les départements d'Outre-mer

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

## C. DESCRIPTIF DES CAPACITES DU LABORATOIRE

### 1. ORGANISATION PROPOSEE

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

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

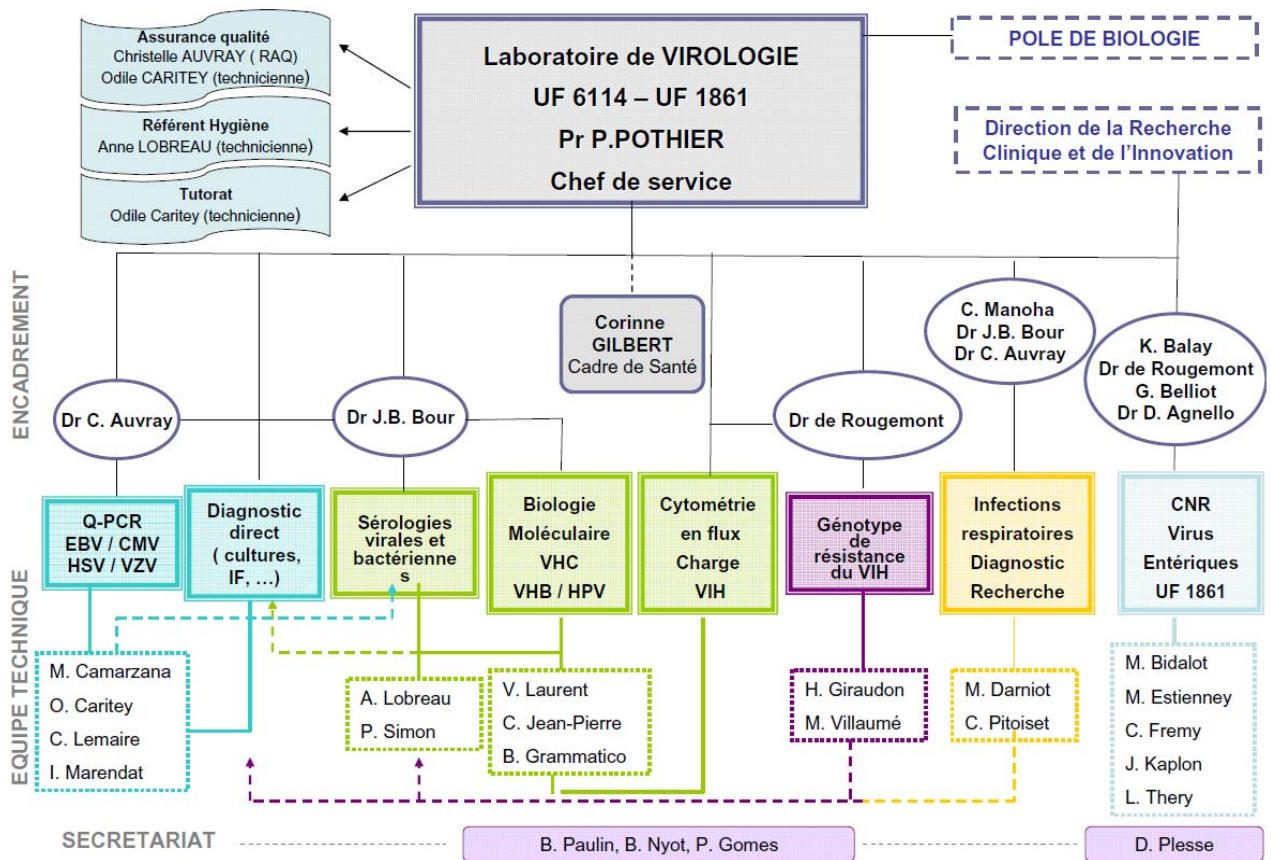
- Le **responsable du CNR** en sera le professeur Pierre POTHIER pour toute la durée du mandat (2012 – 2016) d'abord conjointement à ses responsabilités de chef de service de virologie (2012 – 2013) puis comme consultant (septembre 2013 – 2016).
- Les **collaborateurs** affectés aux activités du CNR des virus entériques seront :
  - o **Deux ingénieurs biologistes à temps plein (UF1861) et**
    - AMBERT-BALAY Katia : PhD. Responsable du suivi des épidémies et des mises au point technique (Calicivirus et autres virus entériques), des relations régulières avec l'InVS, de la banque de données européenne. Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.
    - BELLIO Gaël : PhD. Responsable du suivi des épidémies, mises au point technique (Calicivirus, astrovirus et autres virus entériques), des relations avec le CDC. Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.
  - o **Deux biologistes à temps partiel (UF 6114).**
    - AGNELLO Davide : Pharmacien biologiste, Immunologie, biologie moléculaire. Rotavirus, Temps consacré à l'activité CNR : 0,5 ETP.
    - DE ROUGEMONT Alexis : Médecin biologiste, Praticien Hospitalo-Universitaire. Responsable de l'enquête Rotavirus,. Temps consacré à l'activité CNR : 0,25 ETP.
- 
- **Cinq techniciens** seront affectés au CNR.
- La **responsable qualité** du laboratoire de virologie (Dr Christelle AUVRAY) sera également responsable pour les activités du CNR, elle sera assistée d'un technicien du CNR (Jérôme KAPLON) qui sera son correspondant.
- Toutes les **procédures d'hygiène** applicable au CNR sont celles de l'établissement et sont donc commune à celles du laboratoire de virologie.
- Le **secrétariat** et la gestion administrative du « quotidien » est propre au CNR et nécessite une personne temps plein.

Les gestions administrative et financière seront assurées par le pôle de recherche du CHU de Dijon. Le correspondant administratif et financier est Monsieur Yves MOUILLON.

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

## 2. DESCRIPTION DES MOYENS AFFECTES AU CNR VIRUS ENTERIQUES

### 2.1. ORGANIGRAMME DU LABORATOIRE DE VIROLOGIE ET PLACE DU CNR



## **2.2. RESSOURCES HUMAINES AFFECTEES AU CNR**

(Projet 2012 – 2016 et rappel 2006-2010)

### **Responsable du CNR des virus entériques :**

POTHIER Pierre, Professeur des Universités-Praticien hospitalier, Chef du service de Virologie Médicale du CHU de DIJON.

### **Biologistes :**

#### **Projet 2012 – 2016 : 3 ETP**

(Rappel 2006 : 2,3 ETP ; 2007-2009 : 3 ETP)

#### *Personnel permanent : (total 3 ETP)*

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

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

*AMBERT-BALAY Katia : PhD, Biologiste contractuel. Biologie moléculaire, Microscopie électronique. Calicivirus et autres virus entériques. Suivi des épidémies, relation avec l'InVS, banque de données européenne. Responsable de projet.*

*Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.*

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

*Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.*

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

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

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

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

### **Techniciens :**

#### **Projet 2012 – 2016 : 5 ETP**

(Rappel 2006 : 4,75 ETP ; 2007 : 5 ETP ; 2008-2009 : 5,8 ETP)

#### *Personnel permanent : total 1 ETP*

*KAPLON Jérôme : Virologie médicale, biologie moléculaire.*

*Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.*

#### *Personnel temporaire : 4 ETP*

*BIDALOT Maxime : Virologie médicale, biologie moléculaire.*

*Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.*

*ESTIENNEY Marie : Virologie médicale, biologie moléculaire.*

*Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.*

*FREMY Céline : Virologie médicale, biologie moléculaire.*

*Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.*

*THERY Lucie : Virologie médicale, biologie moléculaire.*

*Temps consacré à l'activité CNR : 1 ETP.*

### **Secrétariat, agent technique (nombre total 2010 : 1 ETP)**

*PLESSE Delphine : Secrétariat, gestion administrative :*

*2006 – 2008 : 0,5 ETP ;*

*2009 et 2010 : 1 ETP.*

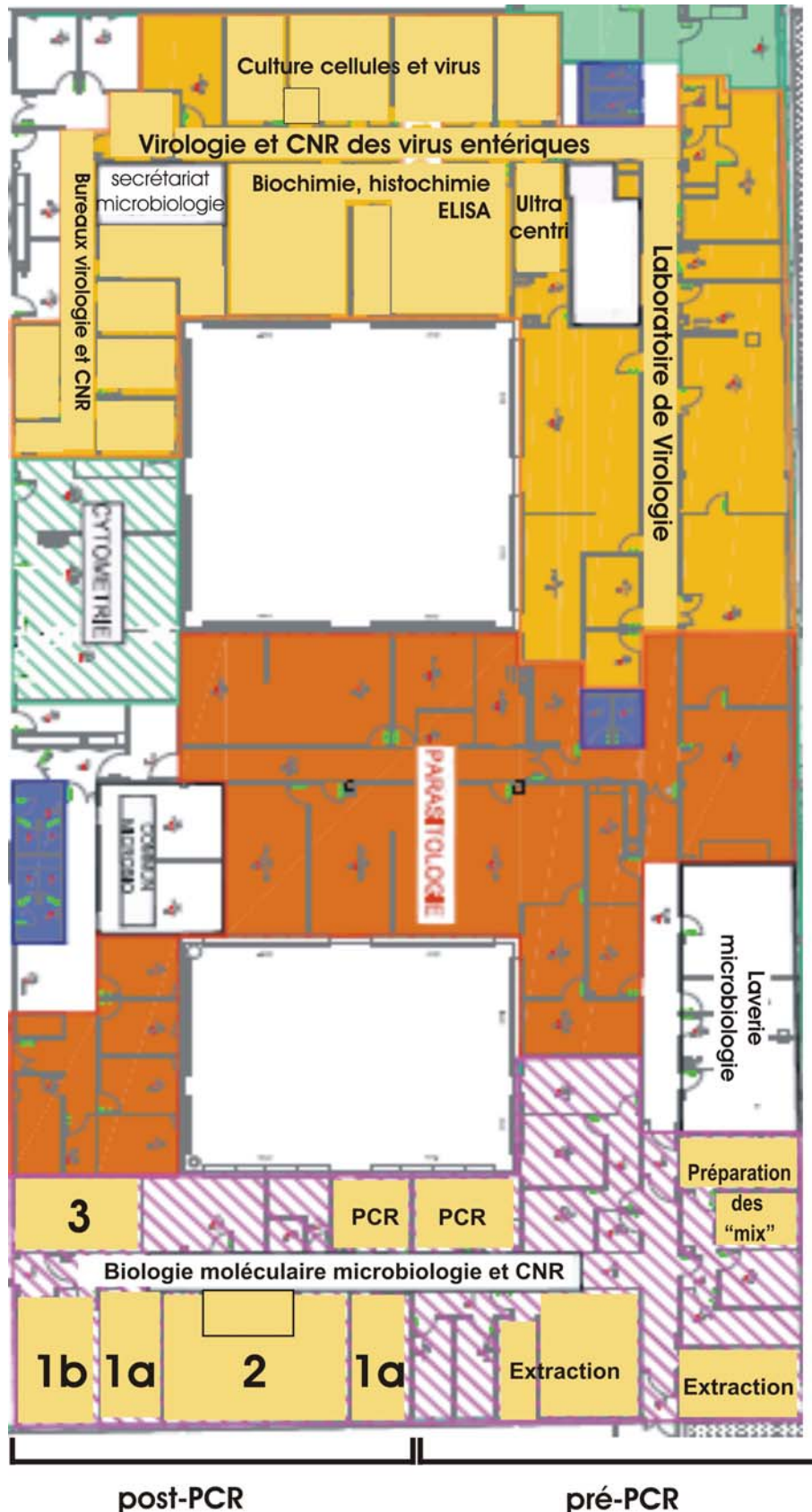


Figure 1 : Plan du laboratoire de virologie et place des activités liées au CNR des virus entériques. Dans la zone biologie moléculaire microbiologie, le CNR dispose de pièces communes avec les autres activités de virologie, il s'agit des pièces de préparation des « mix », d'extraction et celles des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

## 2.3. DESCRIPTION DES LOCAUX ET EQUIPEMENTS

### a. Les locaux

Le laboratoire de virologie et le CNR des virus entériques ont intégré de nouveaux locaux en mai 2008.

Ces nouveaux locaux sont situés au Plateau Technique de Biologie, 2 rue Angélique Ducoudray, bâtiment regroupant tous les laboratoires du CHU de Dijon et l'EFS Bourgogne-Franche Comté.

La surface totale du laboratoire de virologie est d'environ 500 m<sup>2</sup> et se localise au 1<sup>er</sup> étage. La réception des prélèvements et les salles de réunion se situent au rez-de-chaussée.

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

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

### b. Les équipements

- Tout l'équipement nécessaire pour la biologie moléculaire : thermocycleurs classiques et temps réel, électrophorèse, lecteurs de gel, salles pré et post PCR. Extracteur automatique d'acides nucléiques (BioMérieux et Beckman-Coulter).
- Equipement pour le clonage (inoculation, centrifugeuses basse et moyenne vitesse..).
- Ultracentrifugeuses.
- Appareils d'immuno-analyse (ELISA). Immunofluorescence, appareil pour ELISPOT ; Cytomètre en Flux Canto II BD
- Salle propre en surpression de type L2. Tout l'équipement pour la culture de cellules et l'isolement de virus: Hotte à flux laminaire, étuves, incubateurs à CO<sub>2</sub>. Laboratoire de type L3 et son équipement.
- Services communs dans le plateau technique de Biologie ou sur le campus « CHU-Université-INRA » :
  - Séquenceur (Plateau Technique de Biologie).
  - Animalerie (Campus).
  - Accès au service de Microscopie Electronique (Campus)
  - Accès au Centre de Ressources Biologiques du CHU de Dijon (Centre Ferdinand Cabanne, Plateau Technique de Biologie).

## 2.4. THEMATIQUES DE RECHERCHE DU LABORATOIRE

Les thématiques du laboratoire portent sur :

- (1) l'**épidémiologie** des virus responsables de gastroentérites, l'analyse de leur évolution ;
- (2) l'**interaction norovirus - glycannes** et plus généralement les interactions du norovirus avec les cellules ;
- (3) Mécanismes de la **réponse immunitaire au niveau intestinal** après immunisation ou infection à rotavirus. Mécanismes de l'adressage des lymphocytes au niveau de la muqueuse intestinale.

Cette recherche s'effectue dans le cadre du CNR des virus entériques et de l'équipe EA 2466 : Agents pathogènes et inflammation.

## 2.5. CAPACITE TECHNIQUE DU CNR EN 2010

### 2.5.1. Liste des techniques de référence disponibles

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

- Nous utilisons des techniques de **PCR en temps réel** pour les **norovirus murin**, les **norovirus humains** GI et GII et pour les **rotavirus**. Ces techniques sont également utilisées pour apprécier la diminution de la « charge virale génomique » après traitement in vitro pour l'évaluation de l'efficacité virucide d'un traitement technologique des aliments ou in vivo chez la souris pour des essais de protection par immunisation ou autre traitement. Ces techniques de PCR temps réel sont également utilisées pour détecter et **quantifier le virus excrété** dans les selles de patients transplantés afin d'adapter les traitements anti-suppresseurs.
- Nous avons étendu cette technique à la détection d'autres virus entériques, notamment les **adénovirus**.
- Nous maîtrisons les techniques de **culture du norovirus murin** et nous utilisons ce virus très proche des norovirus humains comme substitut dans l'évaluation des désinfectants et antiseptiques ou l'évaluation de l'efficacité virucide d'un traitement technologique des aliments.
- Nous avons adapté les nouvelles souches de **virus Aichi** en culture sur cellules afin d'obtenir des quantités suffisantes pour sa caractérisation. Aujourd'hui, nous avons une collection des différentes souches et un stock d'antigène pour la réalisation de **tests sérologiques virus Aichi** nécessaires aux enquêtes de prévalence que nous conduisons en France et dans les pays du bassin Méditerranéen ou d'Afrique.
- Nous disposons de toutes les techniques immunologiques (ELISA, **Cytométrie en flux**, **ELISPOT**) pour la détection des antigènes viraux ou réaliser des études sur la réponse immune aux infections entériques.

- Par ailleurs, nous avons accès à un service de **microscopie électronique** par une convention entre le CHU et l'INRA.

## 2.5.2. Collection de souches, d'antigènes ou d'anticorps de référence

### 2.5.2.1. Description des collections

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

#### ***Collection de souches ou prélèvements.***

- Notre collection de **virus capable de se multiplier en culture** comprend :
    - Rotavirus bovin (souche RF); simien (souche SA11).
    - Virus Aichi A.
    - Astrovirus type 4 et type 8.
  - Notre **collection de souches** parfaitement caractérisées est importante en quantité et en diversité. Elle comprend la plupart des génotypes connus de **rotavirus**, **norovirus** (plus de 1000 souches de chaque) et la plus importante collection de souches de **virus Aichi**. Nous fournissons plusieurs laboratoires en Europe et dans le reste du monde en réactifs de référence.
  - Elle comprend également plusieurs souches d'**astrovirus**, de **sapovirus** et d'**adénovirus** avec une diversité de sérotypes ou de génotypes.
  - Par ailleurs, nous disposons d'une collection de virus isolés à partir de selles bovines. Il s'agit de **rotavirus et norovirus bovins** de différents génotypes particulièrement utiles pour prouver l'origine bovine de certains virus isolés chez l'homme par comparaisons génétique.
- Au total, notre collection comprend la plupart des génotypes de norovirus et de rotavirus détectés chez l'homme et une grande variété de souches de sapovirus, d'astrovirus et de virus Aichi. Cette collection nous permet, entre autres, **l'évaluation des nouveaux réactifs** ainsi que la fourniture de **contrôles externes** aux laboratoires français souhaitant développer le diagnostic de ces virus entériques.

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

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

- La plupart des virus responsables de gastroentérites ne se multiplient pas sur cellules - ou pour certains difficilement - et ne peuvent donc être purifiés et concentrés. Pour les souches d'intérêt qui risqueraient de ne plus être disponibles après épuisement du prélèvement, nous avons développé un programme de **clonage de leur génome** afin de les conserver sous forme de **plasmide**. Nous pouvons ainsi disposer d'une **source inépuisable du matériel génétique des souches virales d'intérêt**.
- Concernant les norovirus humains, nous avons entrepris un programme d'expression du gène codant la protéine de capsid afin de fabriquer des **pseudo-particules recombinantes de norovirus (VLPs)**. Aujourd'hui, nous disposons de 11 VLPs correspondant à des souches

caractéristiques des principaux norovirus humains : norovirus de génogroupe I (GI.1, GI.2 et GI.3) ; norovirus de génogroupe II (GII.3, GI.4 variant Bristol, US95/96, et ceux responsables des principales épidémies depuis 2004. Hunter<sub>2004</sub>, 2006a, 2006b, Le Caire et 2008). Les VLP GI.1 et GI.4 (Bristol) ont été conçues par le NIH-USA qui nous a confié ces VLP pour des travaux académiques.

#### ***Collection d'anticorps monoclonaux.***

- **Anticorps monoclonaux anti rotavirus** : Nous disposons d'une collection d'anticorps monoclonaux dirigés contre les protéines VP6 et VP4 du rotavirus. Ces anticorps monoclonaux sont utilisés en diagnostic dans certains réactifs commercialisés.
- En **collaboration avec bioMérieux**, nous développons un programme de fabrication d'anticorps monoclonaux dirigés contre les norovirus humains à partir de pseudo-particules précédemment citées. Nous disposons d'anticorps monoclonaux obtenus à partir des génogroupes I et II (GI et GI.4). Ces anticorps seront utilisés d'une part pour l'étude de l'évolutivité des souches de génogroupe II et de génotype 4 (GI.4) et d'autre part pour le **développement d'un réactif pour immuno-diagnostic** (immuno-chromatographie ou autre méthode immuno-enzymatique).

#### **2.5.2.2. Conditions de stockage**

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

#### **2.5.2.3. Conditions de mise à disposition des souches**

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

## D. BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

### 1. ACTIVITE D'EXPERTISE : 2006 - 2010

#### 1.1. EVALUATION DE TROUSSES DE DIAGNOSTIC PAR LE CNR

##### *Diagnostic des rotavirus humains (années 2006 à 2009).*

- **En 2006 - 2007**, nous avons évalué et comparé 7 trousse de détection des rotavirus par immuno-chromatographie commercialisées et couramment utilisées par les laboratoires français.
- **Durant les années 2009 et 2010**, nous avons évalué les trousse en cours de développement par les sociétés Covalab, Coris Bioconcept et Inverness medical.

##### *Diagnostic des norovirus humains (années 2006 – 2010).*

- **2006 -2007** : Dans le cadre d'une expertise européenne impliquant les laboratoires de notre réseau, nous avons évalué les deux trousse ELISA commercialisées à l'époque, Rd Biopharm et Oxoïd. Nous avons trouvé une sensibilité variant entre 60 et 70% ce qui donnait une valeur prédictive positive insuffisante pour un diagnostic unitaire. Dans le cadre d'une stratégie d'investigation d'épidémie, nous avons déterminé qu'il était nécessaire d'analyser au moins 5 à 6 échantillons pour obtenir sur l'ensemble une valeur prédictive satisfaisante. **Ces résultats ne plaident pas en faveur de ces réactifs pour la détection des norovirus, même dans le cadre d'une épidémie.**
- **A partir de 2008**, nous avons évalué une trousse de détection des norovirus par immuno-chromatographie commercialisée par R Biopharm. Pour ce réactif, nous avons trouvé une sensibilité d'environ 78,9% pour les génotypes GII.4 mais une très faible sensibilité pour les autres génotypes de norovirus.
- **2009 - 2010** : Nous avons complété l'évaluation des trousse R Biopharm et évalué deux nouveaux réactifs, deux des sociétés Méridian (réactif Denka) et Biosynex.

	SENSIBILITE					
	immunoCard STAT Norovirus Meridian Bioscience		Biosynex		RidaQuick Norovirus RBiopharm	
		nb pos / nb testés		nb pos / nb testés		nb pos / nb testés
<b>Génogroupe I global</b>	<b>28,6%</b>	<i>14 pos / 49</i>	<b>52,5%</b>	<i>31 pos / 59</i>	<b>18,7%</b>	<i>9 pos / 48</i>
<b>Génogroupe II global</b>	<b>42,4%</b>	<i>45 / 106</i>	<b>48,0%</b>	<i>36/ 75</i>	<b>54,7%</b>	<i>46/84</i>
<b>GII.4</b>	<b>61,2%</b>	<i>30/49</i>	<b>54,5%</b>	<i>12/22</i>	<b>64,3%</b>	<i>18/28</i>

Tableau 1 : Comparaison de la sensibilité de 3 trousse de détection des norovirus par immuno-chromatographie sur un ensemble de génotypes représentatifs.

La spécificité des ces 3 trousse est équivalente, proche de 100%. Les résultats de la sensibilité de ces réactifs sont présentés dans le tableau ci-dessous. La sensibilité est très faible pour les norovirus du génogroupe I, à l'exception du réactif Biosynex (52,5%). Pour la détection des norovirus du génogroupe II, elle s'étale entre 42,4% et 54,7% et plus

spécifiquement pour le génogroupe II génotype 4 (GII.4), le plus fréquent : 54,5% et 64,3%. Même dans cette configuration favorable pour les réactifs, la sensibilité de ces trousse reste faible et insuffisante pour une utilisation individuelle (tableau 1).

*Afin de conserver notre liberté dans l'analyse et la diffusion des résultats, aucune de ces évaluations n'a bénéficié d'un soutien financier de la part des firmes commercialisant ces réactifs. La mise à disposition des réactifs – lorsque ce fut le cas – ne s'accompagnait d'aucune restriction pour le CNR.*

## 1.2. EVALUATION DE PROCÉDES VIRUCIDES

○ **2007 – 2008** : Nous avons utilisé le norovirus murin (MNV) comme substitut aux norovirus humains pour évaluer différents antiseptiques et désinfectants en particulier les solutions hydro-alcooliques. Nos résultats ont montré une différence d'efficacité selon les produits hydro-alcooliques.

- Les produits *Anios gel 85NPC*<sup>®</sup> et *Sterillium*<sup>®</sup> étaient efficaces.
- Le *Purell hygienic hand rub*<sup>®</sup> était inefficace (alors que le *Purell VF 481*<sup>®</sup> contenant 70% d'éthanol est efficace d'après la littérature).

**Nous avons pu conclure de nos travaux que les produits hydro-alcooliques efficaces sont ceux ayant au moins 70% d'éthanol.**

○ **2009 – 2010** : Nous utilisons également ce norovirus murin pour évaluer **l'efficacité virucide des traitements technologiques utilisés dans l'industrie agro-alimentaire** en mesurant le pouvoir infectieux du virus (par titrage) et dénombrant les génomes viraux par PCR en temps réel. La maîtrise de ce savoir faire nous permet de collaborer avec différents laboratoires dans le cadre de contrats ANR (ADHERESIST et SPICECLEAN).

→ Ainsi, en utilisant le **norovirus murin** comme virus test, nous avons montré que :

- les techniques utilisant les **hautes pressions n'étaient pas efficaces** ;
- au contraire, **celles utilisant la lumière pulsée étaient efficaces**.

## 1.3. INVESTIGATIONS VIROLOGIQUES DE CAS SPORADIQUES

**Identifications demandées :**

La recherche peut être ciblée sur un des virus entériques listés ci-dessous ou englober l'ensemble des virus susceptibles d'être la cause de la pathologie :

Rotavirus et Norovirus en premier lieu, puis Sapovirus, Astrovirus, Adénovirus tous types, Virus Aichi, Entérovirus, Paréchovirus, Coronavirus, Bocavirus et Cytomégalovirus.

**Contexte des demandes :**

○ **2006 - 2010**

- Syndrome méningé sans pathogène identifié mais associé à une gastroentérite, notamment à rotavirus. → Recherche moléculaire du virus dans le LCR.
- Gastroentérites survenant après vaccination anti-rotavirus. → détection moléculaire du virus puis caractérisation du génotype.
- Infections nosocomiales chez des patients fragilisés (néonatalogie, immunodéprimés, etc..) → Conseils et recherche de virus.
- Contexte médico-légal ou autre...

○ **2007 - 2010 : Entérocrites ulcéro-nécrosantes**

- Entre 2007 et 2010, nous avons exploré 11 épidémies d'entérocrites ulcéro-nécrosantes. Ces 11 épidémies représentent l'analyse des selles de 62 nouveau-nés.

Nous n'avons jamais détecté un des virus entériques mentionnés ci-dessus (recherche par PCR ou RT-PCR).

○ **2009 - 2010 : Surveillance de patients immunodéprimés.**

– En collaboration avec les services de **transplantations de l'hôpital Necker (AP-HP)**, nous avons montré **l'importance du norovirus dans les diarrhées chroniques survenant chez l'immunodéprimé**. Ce travail a été présenté dans les congrès spécialisés en transplantation afin de sensibiliser cette discipline. En parallèle nous avons largement ouvert les facilités de notre laboratoire aux services traitant ces immunodéprimés et aidé les laboratoires de virologie de CHU correspondants à mettre en place localement les méthodes moléculaires de détection (article joint en annexe).

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

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

○ Monoinfections à Norovirus 27 patients (42 prélèvements pos) ; sapovirus 2 patients positifs (3 prélèvements pos), entérovirus : 2 patients (4 prélèvements pos) ; adénovirus 1 patient (1 prélèvement pos).

○ Infections mixtes : 5 patients infectés avec un ou plusieurs norovirus associés à un virus Aichi, CMV ou entérovirus. Le variant norovirus principalement retrouvé était GII.4 2006b, c'est-à-dire celui circulant dans la population non immunodéprimée. Par contre nous **n'avons pas observé d'incidence saisonnière**.

– **Depuis janvier 2010** nous avons reçu 88 prélèvements (50 en 2010 et 38 durant le premier trimestre 2011) provenant de 23 hôpitaux suivant des transplantés. Vingt neuf (29) prélèvements étaient positifs dont 22 à norovirus.

La responsabilité des norovirus dans les diarrhées chroniques chez les transplantés commence à être reconnue par les cliniciens transplantateurs. Notre CNR reste ouvert aux services de transplantation, à l'implantation des techniques de biologie moléculaire dans les laboratoires de virologie et disponible pour les caractérisations moléculaires plus poussées (par exemple caractérisation des variants). Nous envisageons également des travaux, notamment épidémiologiques, afin de mieux comprendre ces infections.

#### **1.4. INVESTIGATIONS VIROLOGIQUES DES EPIDEMIES**

○ Dans la quasi-totalité des épidémies, l'alerte a été effectuée par l'InVS, les CIRE ou les délégations territoriales des ARS concernées. Les prélèvements ont été transmis par des laboratoires publics ou privés, ou directement par l'établissement touché par l'épidémie. L'acheminement a été effectué par voie postale dans la plupart des cas et les frais étaient remboursés au laboratoire expéditeur ou plus rarement – lorsque le nombre de prélèvements le justifiait - par un transporteur agréé ayant une convention avec le CNR (société TSE).

○ **Entre 2006 et 2010** nous avons expertisé **744 épidémies** (tableau 2) se répartissant sur l'ensemble du territoire. Six cent vingt sept (627=84,3%) étaient positives pour au moins 1 virus entérique (dont presque toujours la présence d'un norovirus : 93,9% des épidémies positives).

**[Epidémies positives : Prélèvements reçus : moyenne : 4,5 selles/épidémie +/- 3,25 ; médiane : 4 selles/épidémie ; Prélèvements positifs : moyenne : 3,3/épidémie +/- 2 et médiane 3 selles/épidémie.]**  
**[Epidémies négatives : Prélèvements reçus : moyenne : 3,1/épidémie et médiane : 2/épidémie]**

Epidémies année = nombre	Virus	Noro	Sapo	Rota A	Adéno	Astro	Aichi	Entéro	Agent inconnu
<b>2006 = 73</b>	Monoinfections : 53	52	0	0	0	0	0	0	9
	Infections mixtes : 11	11	0	6	0	4	3	3	
<b>2007 = 75</b>	Monoinfections : 59	54	0	5	0	0	0	0	11
	Infections mixtes : 5	5	0	1	0	1	3	2	
<b>2008 = 155</b>	Monoinfections : 116	107	1	4	0	2	0	2	26
	Infections mixtes : 13	12	6	5	0	0	2	1	
<b>2009 = 184</b>	Monoinfections : 139	126	1	10	0	1	1	0	30
	Infections mixtes : 15	15	15	4	0	3	3	1	
<b>2010 = 276</b>	Monoinfections : 214	202	2	6	1	2	1	0	39
	Infections mixtes : 23	21	1	5	1	1	5	3	

Tableau 2 : Epidémies investiguées et virus recherchés et caractérisés.

○ **En 2010**, nous avons expertisé **276 épidémies dont 237 étaient positives soit 85,9%** pour un virus entérique (pour 95,8% un norovirus avait été retrouvé dans les prélèvements de selles seul ou associé à un autre virus). De ces épidémies, 1091 prélèvements ont été analysés dont 745 étaient positifs pour au moins un des virus entériques (68,3%). En moyenne nous avons reçu **4 selles par épidémie** et en moyenne 3 d'entre elles étaient retrouvées positives pour un virus.

**[Epidémies positives : Prélèvements reçus : moyenne : 4 selles / épidémie +/- 2,7 ; médiane : 3 selles par épidémie ; minimum : 1 selle et maximum : 24 selles. Prélèvements positifs : moyenne : 3 par épidémie +/- 2 et médiane 3 selles/épidémie.]**

**[Epidémies négatives : Prélèvements reçus : moyenne : 2,2/épidémie et médiane : 2/épidémie]**

Le nombre de selles reçues était moindre dans les épidémies restées sans étiologie. Ces chiffres soulignent la nécessité d'analyser **au moins 4 selles par épidémie** si l'on veut avoir le maximum de chance d'identifier le virus responsable de l'épidémie.

## 1.5. PRINCIPALES SOUCHES VIRALES CARACTERISEES LORS DE CES EPIDEMIES

### ○ 2006 - 2010

– **Norovirus** : 649 souches caractérisées.

○ 64 Génogroupe I (GI) :

▪ GI.1 (7); GI.2 (10); GI.3 (5); GI.4 (15); GI.5 (5); GI.7 (6); GI.8 (5) ;  
GI.9 (4) ; GI.10 (2); GI.12 (3); GI.14 (1).

○ 600 Génogroupe II (GII) :

▪ GII.1 (1); GII.2 (11); GII.6 (17); GII.7 (3); GII.8 (1); GII.9 (1); GII.11 (1);  
GII.13 (10); GII.15 (1); GII.16 (1); GIIf/GII.3 (14) et **GIIf/GII.12 (25)**

▪ **GII.4** : 495

Notamment les variants 2004 (11) ; 2006a (69) ; 2006b (227) ; Le Caire (10) ; 2008 (15), 2010 (170 dont 14 identifiés a posteriori)

- **Rotavirus (45) :**  
les principaux génotypes G1P[8] ; G2P[4] ; G3P[8] ; G4P[8] ; G9P[8].
- Sapovirus (12) : Génogroupe I.2
- Aichi virus : 18 ;  
Génogroupe B : 10 (2009 – 2010) ; génogroupe A : 6 (≤ 2008) ; non caractérisé : 2
- Astrovirus : 13  
Génotype 1 (6) ; génotype 4 (2) ; génotype 8 (3) ; génotype non caractérisé (2)
- Entérovirus : 13
- o **2010**
  - **Norovirus** : 249 souches dont 247 génétiquement caractérisées.
    - o 23 Génogroupe I (GI) :
      - GI.1 (4); GI.2 (1); GI.4 (7); GI.5 (1); GI.7 (5); GI.8 (1); GI.12(3).
    - o 224 Génogroupe II (GII) :
      - GII.1 (1); GII.6 (3); GII.7 (1); GII.8 (1); GII.13 (9); GII.15 (1); GII.16 (1);  
GIIb/GII.3 (2) et GIIg/GII.12 (23).
      - GII.4 : 162. Notamment les variants 2006a (2) ; 2006b (12) ; 2010 (148)
  - **Autres virus :**
    - o 8 rotavirus
    - o 6 virus Aichi génogroupe B
    - o 3 Astrovirus type 1 (1) ou 8 (2)
    - o 2 Sapovirus génogroupe II génotype 2

## 1.6. CARACTERISTIQUES DES 763 GASTROENTERITES COLLECTIVES (2006 – 2010)

- o **Lieu de l'épidémie**
  - **Maison de retraite** : 523 épidémies (68,5%)
    - Transmission : personne à pers : 244 (46,7%) ; inconnue : 237 (45,3%) ;  
aliment : 41 (8,1%) et hydrique : 1.
    - Monoïnfections : 429 (**82 %**) ; mixtes : 23 (4,4%) ; sans pathogène : 71 (13,6%)
  - **Hôpital** : 95 épidémies (12,4%)
    - Transmission : personne à pers : 41 (43,1%) ; inconnue : 40 (42,1%) et  
aliment : 14 (14,7%) 1.
    - Monoïnfections : 70 (73,7%) ; mixtes : 4 (4,2%) ; sans pathogène : 22 (23,1%)
  - **Banquets, restaurants, hôtels** : 65 épidémies (8,4%)
    - Transmission : aliment : 62 (**95,4%**) ; inconnue : 2.
    - Monoïnfections : 34 (52,3%) ; mixtes : 24 (36,9%) ; sans pathogène : 7 (10,8%)
  - **Ecole** : 49 épidémies (6,4%)
    - Transmission: aliment: 34 (69,4%); pers à pers: 11 (22,4%); inconnue: 4 (8,2%)
    - Monoïnfections : 35 (71,4%) ; mixtes : 3 (6,1%) ; sans pathogène : 11 (22,4%)
  - **Centres pour adultes** : 21 épidémies (2,7%)
    - Transmission : aliment : 15 (71,4%) ; inconnue : 5 (23,8%) ; hydrique : 1.
    - Monoïnfections : 13 (61,9%) ; mixtes : 5 (23,8%) ; sans pathogène : 3 (14,3%)
  - **Communes** : 9 épidémies (1,2%). 6 transmission d'origine hydrique et 3 inconnues.
  - **Insuffisamment documentée** : 1 épidémie

○ **Mode de transmission**

- **Personne à personne** : 296 épidémies (38,8%)
  - Maison de retraite : 244 (**82,7%**) ; hôpital : 41 (13,8%) et école : 11 (3,7%).
  - Monoïnfections : 253 (85,5%) ; mixtes : 15 (5%) ; sans pathogène : 28 (9,5%)
- **Alimentaire** : 166 épidémies (21,7%)
  - Banquets, restaurants, hôtels : 62 (37,2%) ; maison de retraite : 41 (25%) ; école : 34 (20,7%) ; centres pour adultes : 15 (9,1%) et hôpital : 14 (8,5%).
  - Monoïnfections : 103 (62%) ; mixtes : 33 (19,9%) ; sans pathogène : 30 (18,1%)
- **Hydrique** : 8 épidémies (1,2%)
  - Communes : 6 (**77,8%**) ; maison de retraite : 1 et Centre pour adulte : 1 épidémie.
  - Monoïnfections : 2 (22,2%) ; **mixtes** : 5 (55,5%) ; sans pathogène : 2 (22,2%)
- **Inconnu** : 292 épidémies (38,3%)
  - Maison de retraite : 237 (81,2%) ; hôpital : 40 (13,7%) ; centres pour adultes : 5 (1,7%) ; école : 4 (1,4%), banquets, restaurants, hôtels : 3 (1%) et commune : 3 épidémies.
  - Monoïnfections : 126 (43,1%) ; mixtes : 11 (3,8%) ; sans pathogène : 55 (18,8%).
- **Insuffisamment documentée** : 1 épidémie

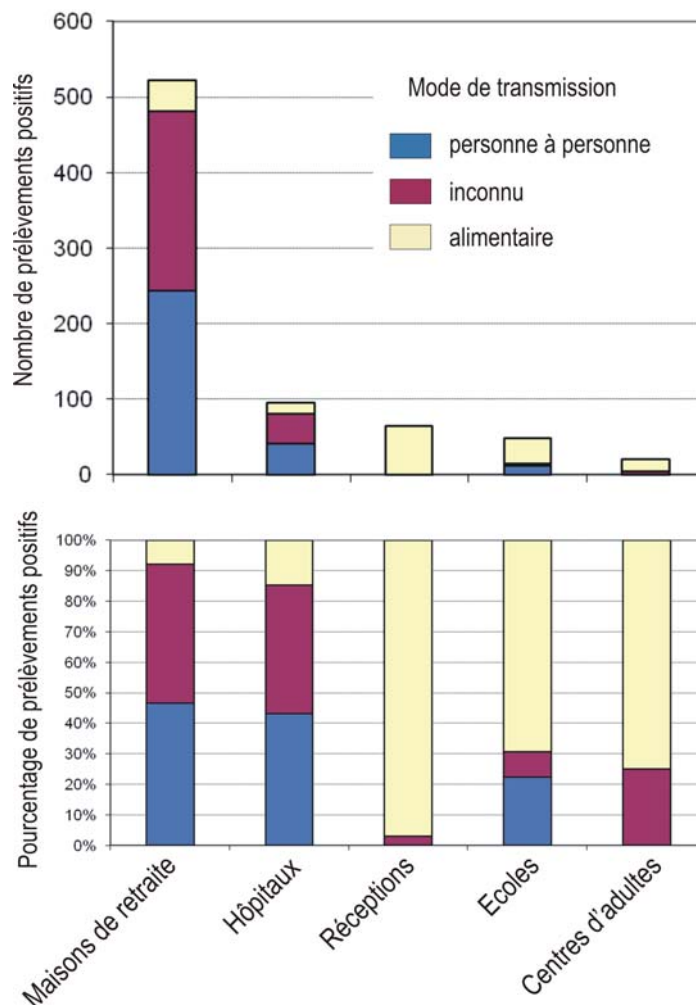


Figure 2 : Caractéristiques des épidémies de gastroentérites d'origine virale selon la localisation et le mode de transmission.

## 1.7. CONCLUSION DES ACTIVITES D'EXPERTISE

- La sensibilité des trousse de diagnostic des norovirus par **immunochromatographie** est médiocre si l'on tient compte de l'ensemble des génotypes et moyenne pour le génotype GGII.4. Ces résultats ne nous permettent pas de recommander ce système de diagnostic pour un diagnostic individuel. La multiplication des analyses de selles dans le cas des épidémies pourrait pallier le **manque de sensibilité de ces tests** dont l'avantage est – pour certains - la simplicité d'utilisation, donc l'utilisation au sein même d'un établissement.
- Les **solutions hydroalcooliques** sont largement utilisées dans les établissements de soins ou d'hébergement de personnes âgées ou handicapées. Nos résultats nous incitent à la plus grande prudence dans le choix de ces produits. Il s'avère que certaines solutions hydroalcooliques ne sont pas efficaces contre les norovirus. **Les établissements doivent sélectionner des produits qui contiennent au moins 70% d'éthanol ou qui répondent totalement à la norme européenne EN 14 476.**
- Les épidémies analysées par le CNR durant cette période 2006 – 2010 ont augmenté durant la deuxième période de la surveillance. Cette augmentation est plus le résultat d'un meilleur recrutement sur l'ensemble du territoire, y compris les DOM, que d'une réelle augmentation des épidémies de gastroentérites.

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

Le second point devant être souligné est la très **grande capacité évolutive des norovirus GII.4**. Le variant prédominant dès janvier 2008 était 2006b qui a persisté durant l'hiver 2008 - 2009. Pour les hivers 2009-2010 et 2010-2011, un nouveau variant (variant 2010) est apparu et a été responsable de la majorité des épidémies.

## 2. ACTIVITE DE SURVEILLANCE

### 2.1. SURVEILLANCE MOLECULAIRE DES ROTAVIRUS EN MILIEU PEDIATRIQUE HOSPITALIER

#### 2.1.1. Réseau de partenaires et répartition géographique

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

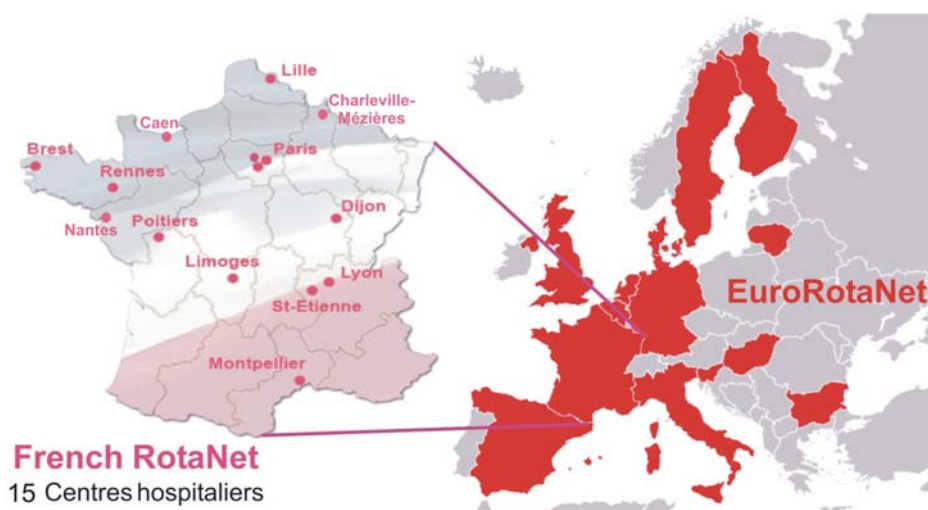


Figure 3 : Répartition des centres participant à l'étude rotavirus en milieu pédiatrique

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

#### 2.1.2. Principaux résultats 2006 - 2010

**Bilan de la surveillance des saisons 2006-2010 :** Quinze centres ont inclus 2897 enfants (sex ratio= 1,34) et envoyé 2802 prélèvements « rotavirus positifs » au CNR, 2799 souches ont pu être caractérisées (tableau 3). Parallèlement 630 fiches cliniques correspondants à une partie de ces prélèvements ont été recueillies.

Centre	Nbre d'échantillons	Centre	Nbre d'échantillons
Brest	412	Nantes	229
Caen	53	Paris Armand-Trousseau	91
Charleville-Mézière	68	Paris Robert-Debré	226
Dijon	280	Paris St-Vincent-de-Paul	265
Lille	137	Poitiers	101
Limoges	80	Rennes	117
Lyon	199	Saint-Etienne	386
Montpellier	155	Total	2799

Tableau 3 : Participation des centres durant la saison 2006-2010.

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

**Résultats obtenus en France (figure 4) :** Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006–2010 représente **2799 souches de rotavirus** (tableau 4) totalement ou partiellement caractérisées. Les cinq principales combinaisons de génotypes G/P ont été durant ces quatre années : **G1P[8] (60,1%)** suivie de **G9P[8] (20,2%)**, cumulant à elles seules **80,3% des souches détectées**, puis **G2P[4] (9,6%)** Les autres combinaisons classiques, G3P[8] (2,7%) et G4P[8] (2,1%), représentaient moins de 5%. Ainsi, les 4 combinaisons génotypiques classiques et « historiques » (G1P[8]/G2P[4]/G3P[8] et G4P[8]) représentaient 74,5%. Le « nouveau » génotype **G9P[8] a représenté le deuxième génotype** en terme de fréquence jusqu'en 2009 (en 2009-2010 le génotype G2P[4] était avant G9P[8]). Les **génotypes ou combinaisons atypiques représentaient 2,4%** et les infections mixtes 2,7%.

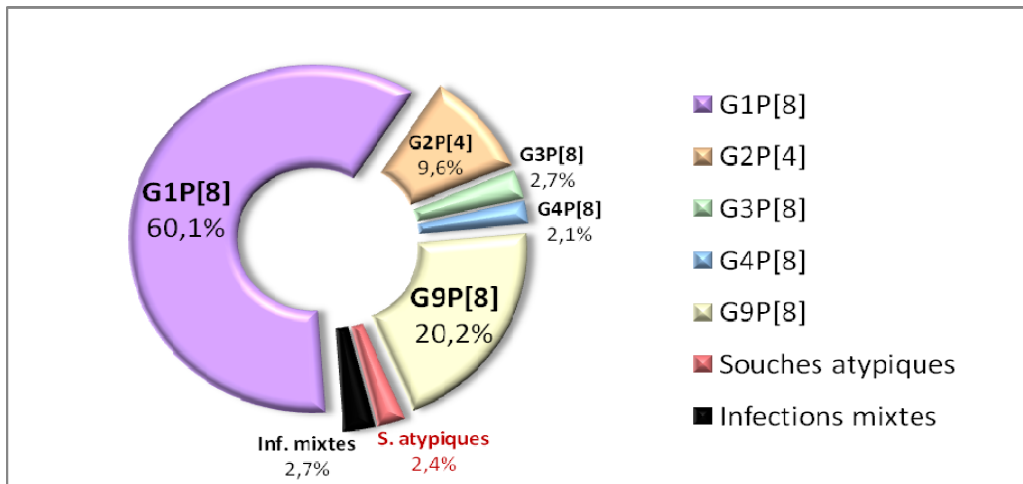


Figure 4 : Distribution des combinaisons génotypiques des rotavirus détectés **en France** durant l'ensemble de la surveillance 2006-2010.

**Les résultats obtenus en Europe (figure 5)** sont sensiblement différents de ceux observés en France pour 2 combinaisons génotypiques. Le génotype **G9P[8]** est plus fréquent en France que dans l'ensemble des pays européens participant à l'étude, 20,% en France contre 11,9% pour l'ensemble. Au contraire, le génotype **G4P[8]** est moins fréquent en France, 2,1% contre 15,4%.

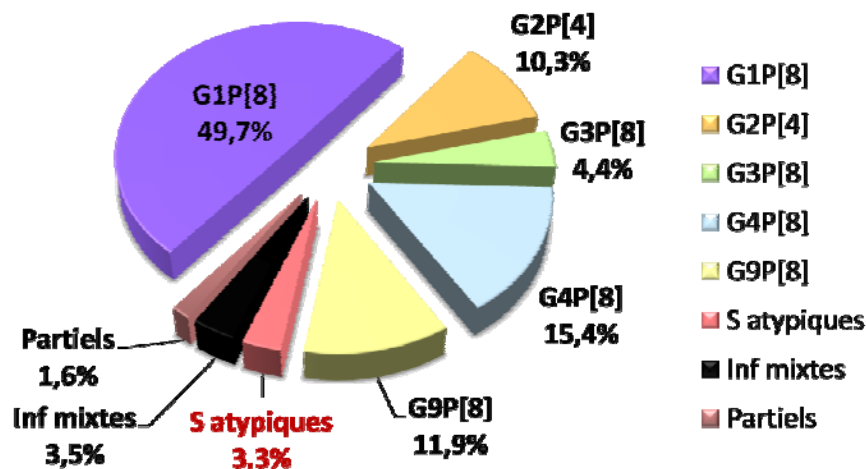


Figure 5 : Distribution des combinaisons génotypiques des rotavirus détectés **en Europe** durant l'ensemble de la surveillance 2006-2009 (Iturriza-Gomara et coll. 2011).

### Analyse globale de la répartition des génotypes G ou P :

L'analyse séparée des génotypes G (tableau 4 et figure 6) montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaison G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France ont été les génotypes **G6** (0,2%), **G8** (0,3%) et **G12** (0,4%). Aucun autre génotype G n'a été détecté.

Les génotypes P sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** (87,5%), alors que le génotype **P[4]** représente 10,8%. Ce résultat concernant le génotype P[4] est à considérer dans le suivi des effets de la vaccination (en particulier le vaccin rotarix, G1P[8]). Les génotypes atypiques en France étaient représentés par **P[3]**, **P[6]**, **P[9]** et **P[14]** : 29 souches soit 1,05% de l'ensemble.

	Nombre de souches détectées (%)								Total (%)	
	2006-2007 n=567 (%)		2007-2008 n=736 (%)		2008-2009 n=644 (%)		2009-2010 n=852 (%)		2006-2010 n=2799 (%)	
<b>Génotypes G (incluant les infections mixtes)</b>										
<b>G1</b>	<b>300</b>	<b>(52,9)</b>	<b>493</b>	<b>(67,0)</b>	<b>363</b>	<b>(56,4)</b>	<b>539</b>	<b>(63,3)</b>	<b>1695</b>	<b>(60,6)</b>
<b>G2</b>	<b>73</b>	<b>(12,9)</b>	<b>13</b>	<b>(1,8)</b>	<b>33</b>	<b>(5,1)</b>	<b>158</b>	<b>(18,5)</b>	<b>277</b>	<b>(9,9)</b>
G3	18	(3,2)	18	(2,4)	29	(4,5)	35	(4,1)	100	(3,6)
G4	5	(0,9)	2	(0,3)	36	(5,6)	20	(2,3)	63	(2,3)
G6	0	(0,0)	2	(0,3)	0	(0,0)	3	(0,4)	5	(0,2)
G8	4	(0,7)	1	(0,1)	2	(0,3)	2	(0,2)	9	(0,3)
<b>G9</b>	<b>143</b>	<b>(25,2)</b>	<b>178</b>	<b>(24,2)</b>	<b>167</b>	<b>(25,9)</b>	<b>81</b>	<b>(9,5)</b>	<b>569</b>	<b>(20,3)</b>
G12	2	(0,4)	8	(1,1)	1	(0,2)	1	(0,1)	12	(0,4)
G1 + G2	2	(9,1)	2	(8,7)	1	(7,7)	5	(38,5)	10	(0,4)
G1 + G3	1	(4,5)	3	(13,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	4	(0,1)
G1 + G4	0	(0,0)	0	(0,0)	2	(15,4)	1	(7,7)	3	(0,1)
G1 + G9	14	(63,6)	14	(60,9)	7	(53,8)	5	(38,5)	40	(1,4)
G2 + G3	1	(4,5)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(0,0)
G2 + G4	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(7,7)	1	(0,0)
G2 + G9	1	(4,5)	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(7,7)	2	(0,1)
G3 + G4	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(7,7)	0	(0,0)	1	(0,0)
G3 + G9	2	(9,1)	4	(17,4)	0	(0,0)	0	(0,0)	6	(0,2)
G4 + G9	1	(4,5)	0	(0,0)	2	(15,4)	0	(0,0)	3	(0,1)
<b>Génotypes P</b>										
P[3]	1	(0,2)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	1	(<0,1)
P[4]	73	(12,9)	14	(1,9)	33	(5,1)	181	(21,2)	301	(10,8)
P[6]	7	(1,2)	3	(0,4)	3	(0,5)	8	(0,9)	21	(0,8)
P[8]	481	(84,8)	713	(96,9)	606	(94,1)	650	(76,3)	2450	(87,5)
P[9]	1	(0,2)	1	(0,1)	0	(0,0)	0	(0,0)	2	(0,1)
P[14]	0	(0,0)	1	(0,1)	1	(0,2)	3	(0,4)	5	(0,2)
P[4]+P[8]	4	(0,7)	4	(0,5)	1	(0,2)	10	(1,2)	19	(0,7)

Tableau 4 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2010

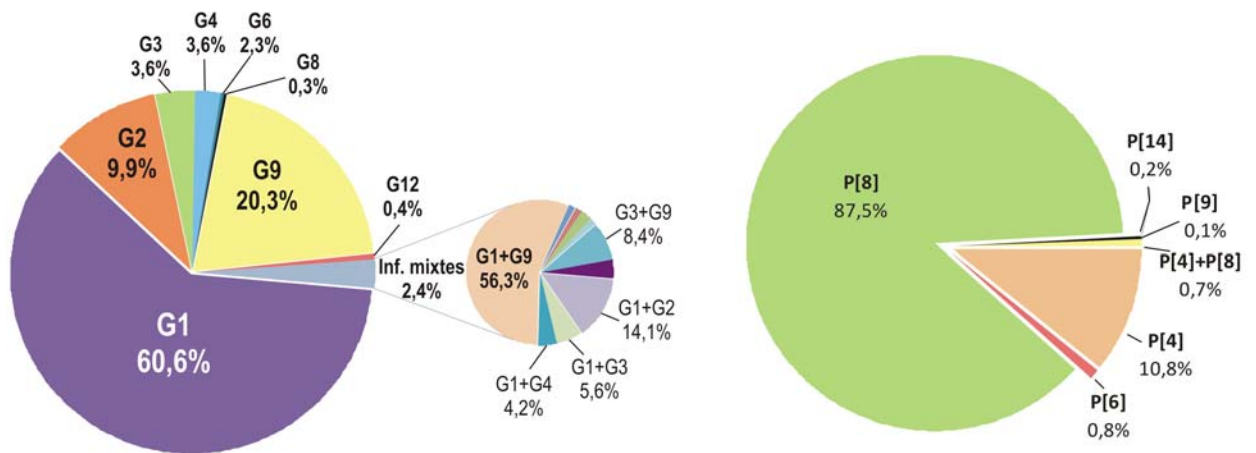


Figure 6 : Distribution globale des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2010.

### Variations temporo-spatiales des infections à rotavirus (figure 7 et 8) :

Sur l'ensemble de la France, le pic des infections à rotavirus apparaissait en février ou mars pour les deux dernières saisons (2007-08 et 2008-09) et plus tardivement, en avril, pour la première saison (2006-07). La précocité ou non des épidémies ne peut être expliquée par la prédominance d'un génotype pour une saison donnée (figure 7). Les pics épidémiques sont différents selon les centres. Par ailleurs, il semble que **les épidémies à rotavirus apparaissent 1 à 2 mois plus tôt en région parisienne** (figure 8). Ce phénomène pourrait être lié à la densité de la population et aux transports en commun qui constituent une situation plus spécifique à la région parisienne qu'aux autres centres étudiés.

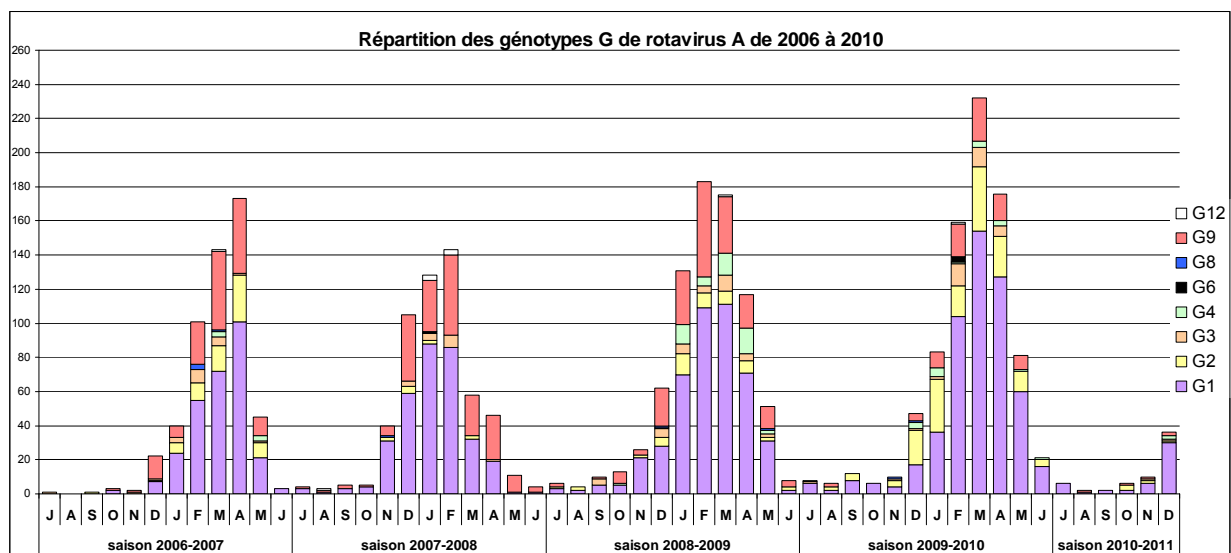


Figure 7 : Distribution mensuelle des génotypes G des rotavirus (juillet 2006 à juin 2010).  
[Résultats partiels pour la saison 2010-2011]

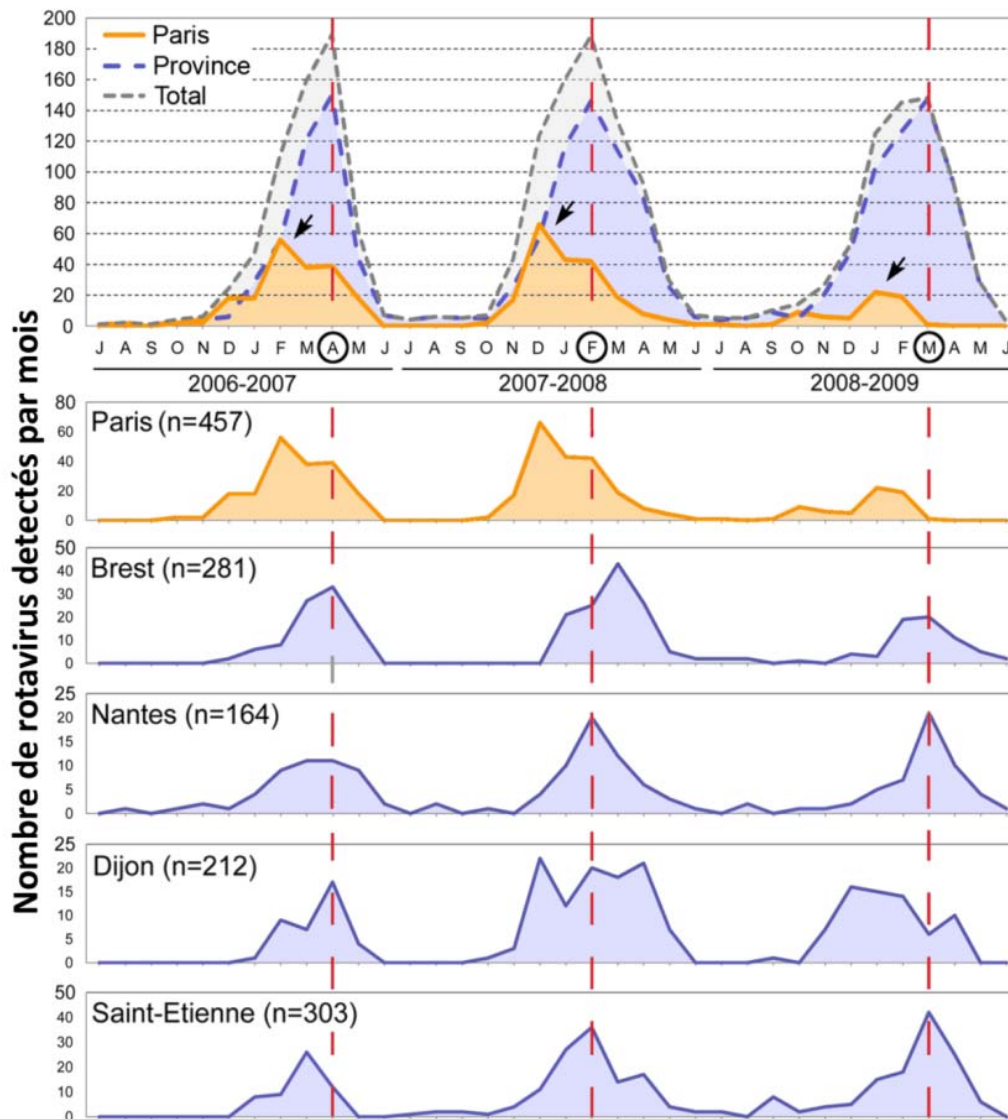


Figure 8 : Distribution temporo-spatiale des rotavirus (juillet 2006 à juin 2009) pour l'ensemble de l'étude et pour 5 centres représentatifs.

#### Variations temporelles des génotypes de rotavirus (figure 9 à 11) :

##### ○ Génotypes G :

Les variations selon les saisons concernent tous les génotypes majoritaires, mais durant la période de surveillance elles sont plus marquées pour les **génotypes G9 et G2**.

– Le **génotype G1** est le **génotype largement majoritaire pour toutes les saisons**, à l'exception de la saison 2004-2005. Ce phénomène a été également observé dans les autres pays européens du réseau de surveillance.

– **Génotype G9** : Nous avons détecté pour la première fois en France le génotype G9 en 1998 mais il est resté rare jusqu'en 2004. Durant l'hiver 2004-2005 ce génotype G9 est devenu brusquement la souche majoritaire et depuis reste, au moins en France, le deuxième génotype en termes de fréquence, après le génotype G1. Il existe une variabilité selon les saisons, devenu brusquement le génotype majoritaire en 2004-2005 avec 67,6% des souches analysées, il s'est stabilisé entre 16,4 et 25,9% de 2005 à 2009.

**Le fait marquant de la saison 2009-2010 est la décroissance de la prévalence du génotype G9 (9,5%),** décroissance observée dans tous les centres et confirmée par les résultats préliminaires et partiels de la saison 2010-2011 (6,7% sur 134 souches caractérisées). La décroissance du génotype G9 intervient au moins une année plus tard que dans la plupart des autres pays européens (Allemagne, Suède, Espagne notamment).

– **Génotype G2** : La surveillance de ce génotype présente un intérêt particulier car le vaccin monovalent ne contient que les génotypes G1 et P[8]. Il existe une **variabilité cyclique de la prévalence de ce génotype**. Durant les saisons 2006-2007 et 2009-2010 la prévalence de ce génotype était respectivement de 12,9 et 18,5%.

– **Génotypes G3 et G4** : Contrairement aux observations des années 2001 à 2005, ces génotypes n'ont pas représenté un grand nombre de souches pour la période 2006-2010 (respectivement 3,6 et 2,3% de la totalité des souches caractérisées, avec un maximum de 4,5 et 5,6% et en 2008-2009).

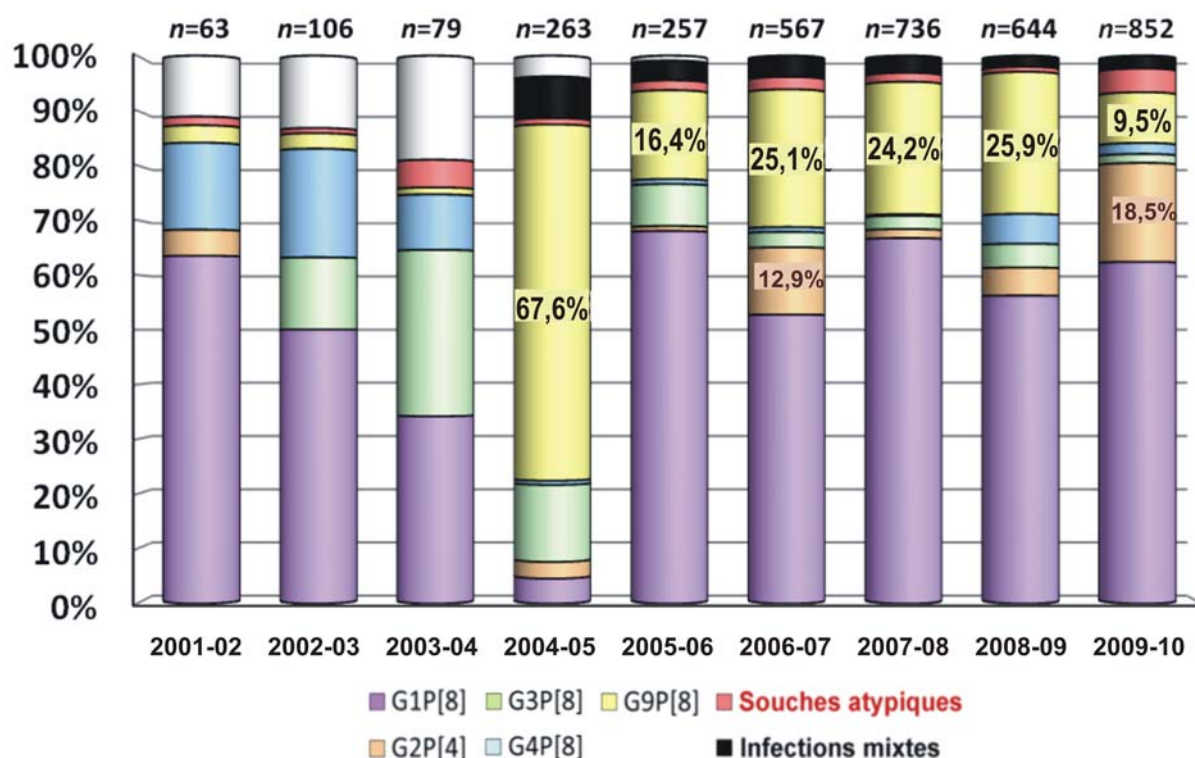


Figure 9 : Evolution des génotypes G de rotavirus en France entre 2001 et 2010.

○ **Génotypes P :**

La variabilité constatée pour les génotypes G n'est pas retrouvée pour les génotypes P. Le génotype P[8] est très largement majoritaire tout au long de l'étude et quelque soit le centre d'origine du prélèvement (figure 10). L'augmentation du génotype P[4] durant 2009-2010 est liée à celle du génotype G2.

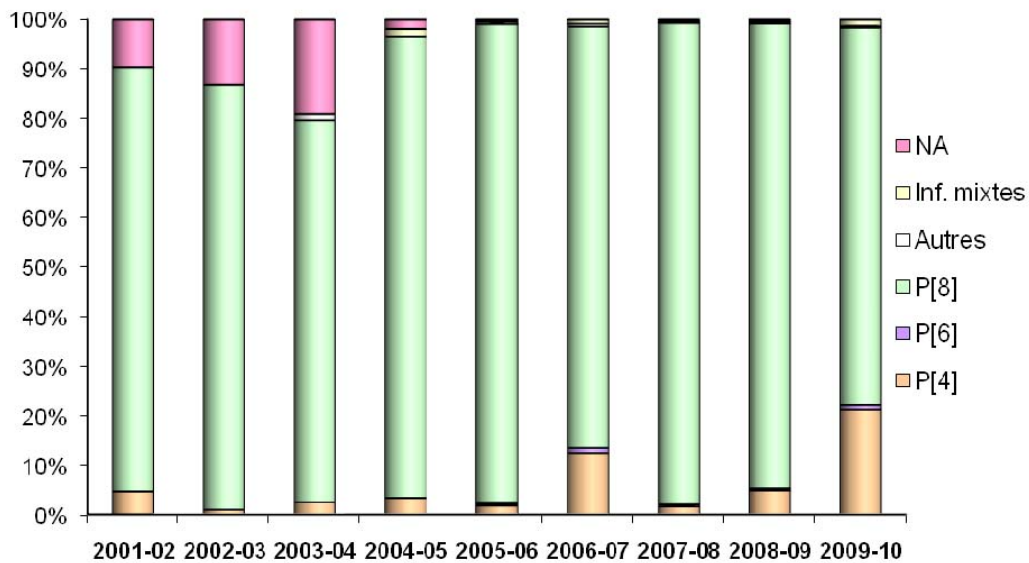


Figure 10 : Répartition des génotypes P de rotavirus en France entre 2001 et 2010. Contrairement aux observations relevées pour les génotypes G qui ne présentent pas de dominance nette et constante d'un génotype particulier, le génotype P[8] est très largement prédominant.

o **Souches ou combinaisons inhabituelles** (tableaux 4 et 5, figure 11) :

Il s'agit de génotypes habituellement non détectés ou rares chez l'homme. Il s'agit des génotypes G6 (5 souches), G8 (9 souches), G12 (12 souches), P[3] (1 souche), P[6] (21 souches), P[9] (2 souches) et P[14] (5 souches). Ces souches peuvent être d'origine animale (bovine, porcine, caprine, féline ou canine). La figure 10 montre l'évolution de la fréquence de ces souches entre les saisons 2001 et 2010.

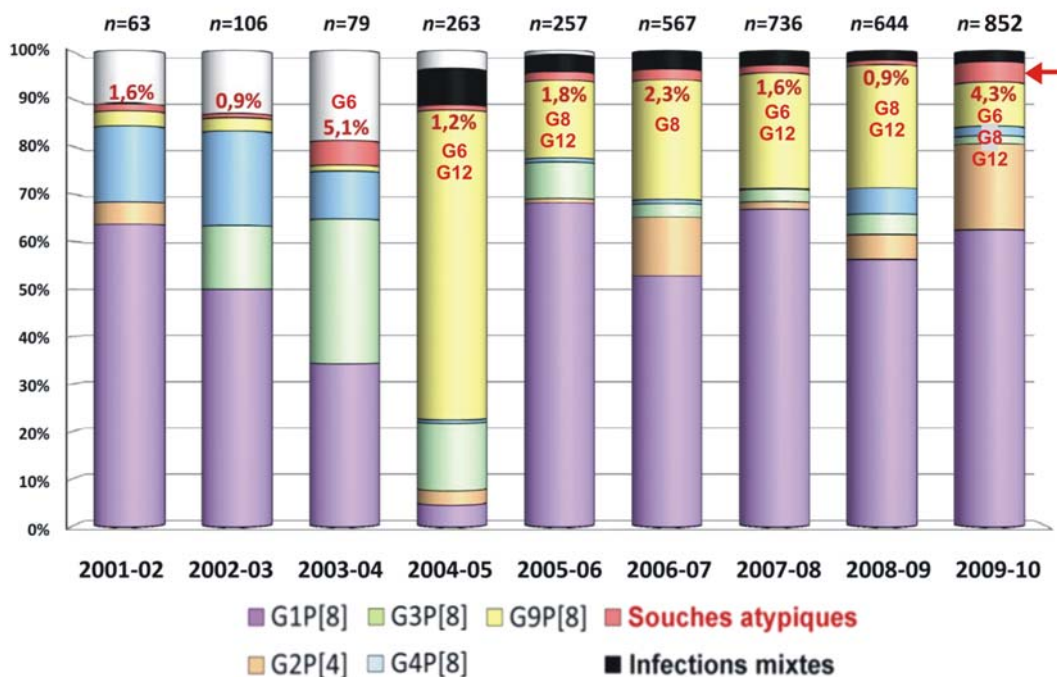


Figure 11 : Evolution des génotypes ou combinaisons génotypiques inhabituels de rotavirus en France entre 2001 et 2010 (en rouge les principaux génotypes et le pourcentage global)

Le tableau 5 indique l'espèce animale d'origine des segments codant les protéines VP7, VP4, VP6 et NSP4. Nos résultats montrent ainsi la possibilité d'infections humaines par des virus réassortants dont certains gènes sont d'origine animale.

N° de Souche	VP7(G)		VP4(P)		VP6		NSP4		Site	Saison
R2854	1	Hu	6	Hu/Po	II	Hu	B	Hu	Montpellier	2008-2009
R1404	2	Hu	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris SVP	2006-2007
R2776	2	Hu	6	Hu/Po	I	An	A	An	Nantes	2007-2008
R1688	2	Hu	8	Hu	I	An	A	An	Rennes	2006-2007
R1486	3	Hu	3	Hu/Ca/Fe	I	An	C	An	Brest	2006-2007
R3123	3	Hu	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris AT	2008-2009
R1320	3	Hu	9	Hu/Fe	I	An	A	An	Montpellier	2006-2007
R3198	3	Hu	9	Hu/Fe	I	An	A	An	Brest	2008-2009
R3136	4	Hu	4	Hu	II	Hu	B	Hu	Brest	2008-2009
R1737	6	Bo/Ov	9	Hu/Fe	I	An	A	An	St-Etienne	2007-2008
R2775	6	Bo/Ov	14	Hu/Cap	I	An	A	An	Nantes	2007-2008
R1197	8	Bo/Ov	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris RB	2006-2007
R1259	8	Bo/Ov	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris RB	2006-2007
R1265	8	Bo/Ov	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris RB	2006-2007
R1357	8	Bo/Ov	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris SVP	2006-2007
R1853	8	Bo/Ov	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris RB	2007-2008
R2631	8	Bo/Ov	6	Hu/Po	I	An	A	An	Paris SVP	2008-2009
R3265	8	Bo/Ov	14	Hu/Cap	I	An	A	An	Nantes	2008-2009
R1725	12	Hu	6	Hu/Po	II	Hu	B	Hu	St-Etienne	2007-2008
R2728	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Nantes	2006-2007
R1196	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Paris RB	2006-2007
R1945	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Limoges	2007-2008
R1778	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Paris SVP	2007-2008
R1956	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Limoges	2007-2008
R2237	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Paris AT	2007-2008
R1949	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Limoges	2007-2008
R1955	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Limoges	2007-2008
R1939	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Limoges	2007-2008
R2836	12	Hu	8	Hu	II	Hu	B	Hu	Nantes	2008-2009
R1334	1 + 9	Hu	6	Hu/Bo	nt	-	nt	6	Montpellier	2006-2007
R1273	1 + 9	Hu	6 + 8	Hu/Bo	II	Hu	B	Hu	Paris RB	2006-2007

AT : Hôpital Armand-Trousseau, Paris; RB : Hôpital Robert-Debré, Paris; SVP : Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris.

Hu : humain; An: animal; Bo: bovin; Ca: canin; Cap: caprin; Fe: félin; Ov: ovin; Po: porcine

Nt: non typable

Tableau 5 : Risque d'émergence et barrière d'espèce pour les rotavirus de génotypes G6, G8 (origine bovine) et certains G3 (origine canine ou féline).

## Variabilité géographique des génotypes de rotavirus :

Il existe également une variabilité selon les centres (figure 12) et, pour l'étude européenne, selon les pays (figure 13). Cette variabilité concerne tous les génotypes.

Par exemple pour ce qui concerne le génotype G9, sa prévalence est restée élevée en France jusqu'en 2009 alors que dans la plupart des pays européens elle avait commence à décroître dès la saison 2007-2008. Prévalence européenne du génotype G9P[8] : 2006-2007 = 20,17%, 2007-2008 = 10,52% ; 2008-2009 = 8,03%.

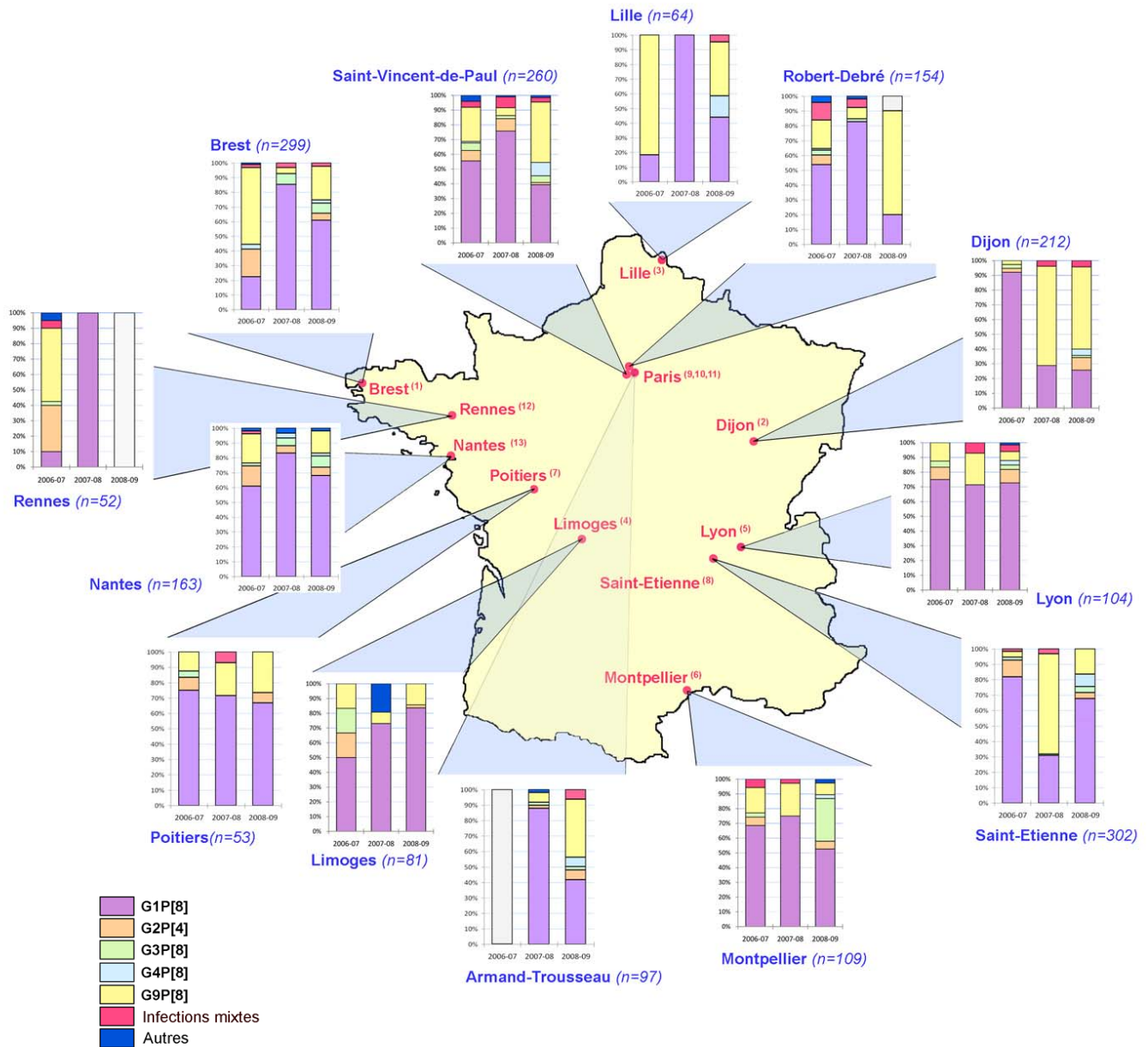


Figure 12. Répartition des combinaisons génotypiques G/P de rotavirus par centre au cours des saisons 2006 à 2009.

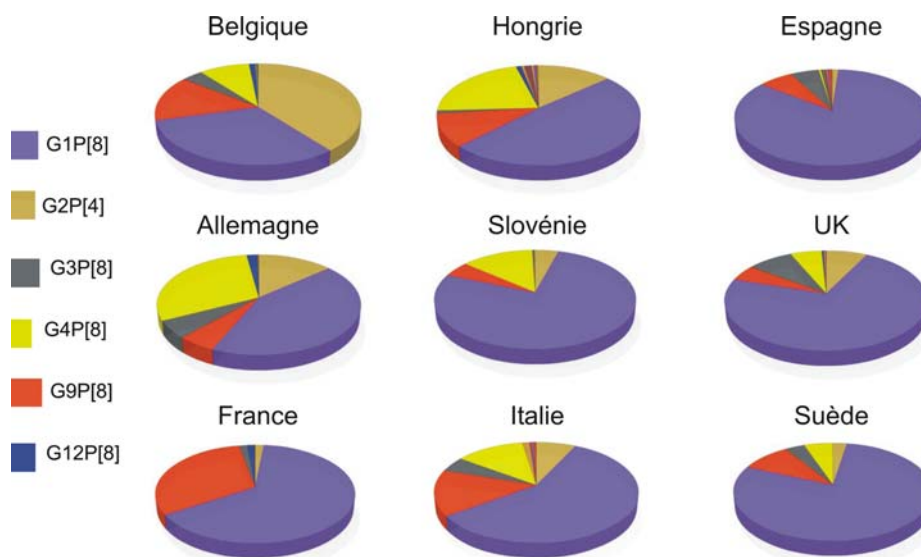


Figure 13 : Comparaison de nos résultats pour la saison 2007-2008 avec ceux d'autres pays du réseau européen du réseau EuroRotaNet.

### Conclusion :

Cette surveillance épidémiologique des souches de rotavirus s'est effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale. En effet, la couverture vaccinale n'a jamais dépassé 9% tous vaccins confondus.

Les résultats significatifs sont :

- La **large prédominance du génotype G1** à l'exception de la saison 2004-2005.
- **L'émergence du génotype G9** comme nouveau génotype majeur avec G1, G2, G3 et G4.
- La **variation cyclique des génotypes G2, G3 et G4**. Notre étude a particulièrement mis en évidence celle du génotype G2P[4]. La variation du génotype G2P[4] doit être surveillée compte tenu de l'utilisation d'un vaccin monovalent.
- Associée à cette variabilité selon les saisons, il existe une très **grande variabilité géographique, les génotypes prédominant pouvaient variés d'une région à une autre**.
- La stabilité de la fréquence des souches inhabituelles et l'existence de **souches d'origine animale** infectant les enfants de cette étude.

## 2.2. SURVEILLANCE MOLECULAIRE DES GASTROENTERITES COMMUNAUTAIRES

L'objectif de cette étude était de d'une part détecter et caractériser les virus responsables de gastro-entérites non-hospitalisées d'autre part conduire, au moins partiellement, cette surveillance en parallèle à celle sur les rotavirus en milieu hospitalier.

Ainsi nous avons sélectionné un premier groupe de 4 laboratoires dijonnais et un second groupe de laboratoire de la banlieue proche de Paris (Val de Marne). L'étude a commencé début novembre 2008 et les résultats présentés couvrent la période de **novembre 2008 à février 2011**. Les virus recherchés étaient les rotavirus, norovirus, sapovirus, astrovirus, adénovirus et les virus Aichi. Les laboratoires nous transféraient toutes les coprocultures positives ou négatives qu'ils recevaient.

### 2.2.1. Fréquence de détection des virus

Au total, 1311 prélèvements de selles ont été envoyés au CNR ; 1232 échantillons ont été analysés se répartissant ainsi :

- 0-2 ans : 230 selles (17,5%) → 79 positives : (33,9%)
- 2-5 ans : 110 selles (8,4%) → 31 positives : (28,2%)
- 5-65 ans : 633 selles (48,3%) → 47 positives : (7,4%)
- >65 ans : 338 selles (25,8%) → 24 positives : (7,1%)

Au moins 1 virus a été retrouvé dans 181 selles (14,7%) (figure 14) :

- 169 mono-infections : 52 rotavirus, 77 norovirus, 5 sapovirus, 15 astrovirus, 7 virus Aichi, 13 adénovirus.
- 12 infections mixtes : norovirus avec rotavirus (n=4 selles) ou sapovirus (n=2) ou astrovirus (n=2) ou virus Aichi (n=2) ; rotavirus associé à sapovirus (n=2).

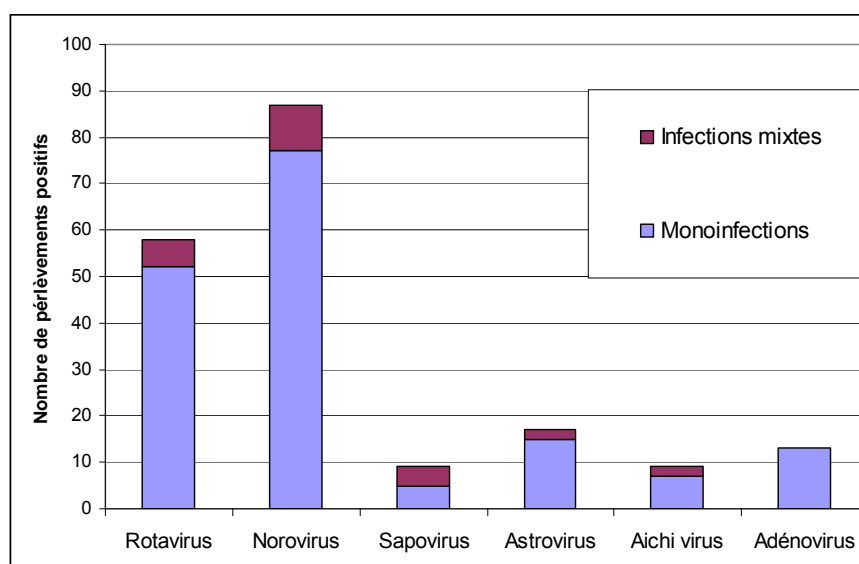


Figure 14 : Fréquence des virus entériques isolés dans les 1232 selles de patients diarrhéiques non hospitalisés (181 étaient positives pour au moins un virus).

### 2.2.2. Distribution des virus selon les groupes d'âge

Les virus entériques ont été plus fréquemment détectés chez les enfants de moins de 5 ans (figures 15a et 15b):

- 0-2 ans : 33,9% des prélèvements

- 2-5 ans : 28,2%
- 5-65 ans : 7,4%
- > 65 ans : 7,1%

Les infections à rotavirus sont très liées à l'âge. La majorité des rotavirus est retrouvée chez les enfants de moins de 5 ans (figure 15a). Les rotavirus sont la cause de 45,5% des gastro-entérites virales dans cette tranche d'âge (14,7% de l'ensemble des prélèvements de cette tranche d'âge). Les infections à rotavirus sont moins fréquentes chez les enfants plus âgés et les adultes, chez qui elles ne représentent que 12,7% des étiologies virales.

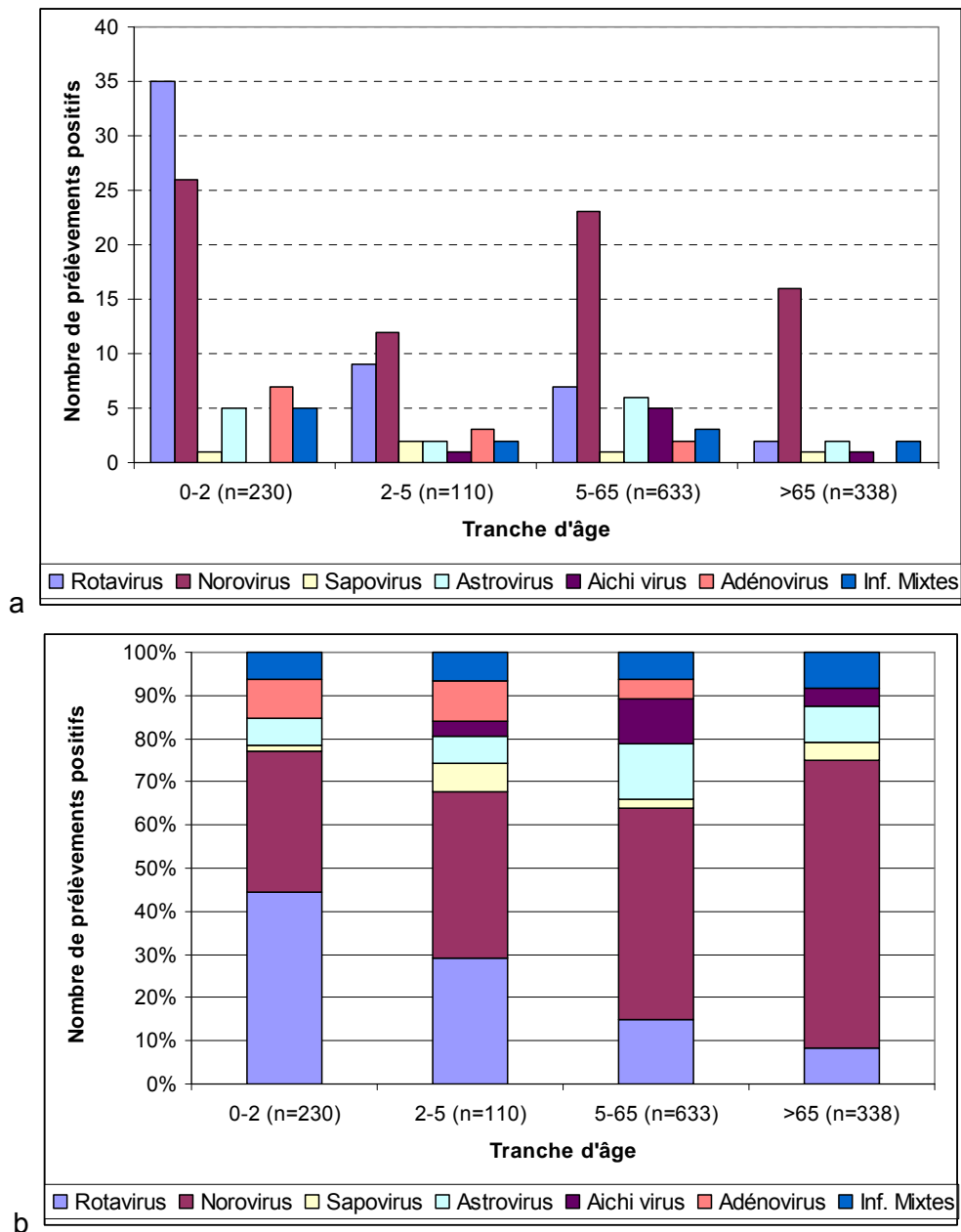


Figure 15 : Distribution des virus entériques en fonction des tranches d'âge

Les infections à norovirus sont détectées dans toutes les tranches d'âge.

- Chez l'enfant de moins de 5 ans les norovirus sont une cause importante de gastroentérite, deuxième cause virale derrière les rotavirus. Les norovirus sont la cause de 39,1% des gastro-entérites virales dans cette tranche d'âge (12,6% de l'ensemble de prélèvements de cette tranche d'âge). Chez les enfants de moins de 2 ans les norovirus sont la seconde

cause derrière les rotavirus. Ils sont la première étiologie de gastro-entérites virales chez les enfants de 2 à 5 ans.

- Les norovirus sont par contre la principale cause des gastroentérites chez les patients de plus de 5 ans, les autres virus étant minoritaires (figure 15a et b).

### 2.2.3. Distribution des géotypes des rotavirus et norovirus

**Rotavirus** : Le principal géotype de rotavirus circulant dans la population est G9P[8] (50%) suivi de G1P[8] (36,2%). Cette proportion était différente selon la région étudiée. Dans la région de Dijon la répartition était G9P[8] (59,4%) et G1P[8] (25%) alors que dans la banlieue parisienne G9P[8] et G1P[8] représentaient respectivement 38,5% et 50% des souches. Ces différences correspondent à celles retrouvées parmi les rotavirus des enfants hospitalisés.

**Norovirus** : Les norovirus de génogroupe II sont largement prédominantes puisque seules 3 souches de génogroupe I ont été trouvées (2 GI.3 et 1 GI.nt). Dans la région de Dijon comme dans la banlieue parisienne, les souches de génogroupe II et géotype 4 ont été le plus fréquemment retrouvées avec toutefois des prévalences différentes : 51,5% en région parisienne et 65,4% en région dijonnaise.

### 2.2.4. Conclusions

**Les 6 virus entériques recherchés représentent 14,7% des étiologies des gastro-entérites** chez les patients consultant un médecin généraliste ou un pédiatre de ville. Mais le pourcentage de positivité varie selon l'âge. Entre 28 et 34% des prélèvements sont positifs chez les enfants de moins de 5 ans. Par contre, seulement 7% des selles sont positives pour un virus chez les enfants de plus de 5 ans, les adultes et les personnes âgées.

Les rotavirus et les norovirus sont les plus fréquemment détectés. Chez les enfants de moins de 2 ans les rotavirus prédominent alors que dans les autres tranches d'âge, les norovirus sont les plus fréquents, principalement au-delà de 5 ans. Globalement pour les enfants de moins de 5 ans, les rotavirus représentent 44 échantillons positifs et les norovirus 28. Si dans cette tranche d'âge (0 – 5 ans) les rotavirus restent le virus le plus fréquemment en cause, les **norovirus représentent une étiologie fréquente de gastroentérites communautaires**, beaucoup plus fréquente par rapport à celle observée chez les enfants hospitalisés. Il est probable que l'hospitalisation « filtre » les cas de gastroentérites les plus sévères, donc celles qui seraient dues aux rotavirus.

Parmi les rotavirus, les géotypes G1P[8] et G9P[8] sont les plus fréquents avec des différences selon la région, G9P[8] étant prédominant à Dijon. Ces différences sont par ailleurs similaires à celles observées chez les enfants hospitalisés.

Le typage moléculaire des souches de norovirus a montré une très forte prédominance du génogroupe II. Malgré une très grande diversité au sein de ce génogroupe, le géotype GII.4 prédomine.

## 2.3. DETECTION ET INVESTIGATION DES CAS GROUPES

### 2.3.1. Réseau de partenaires et répartition géographique

Nos principaux partenaires sont :

- o l'**InVS** et les **CIRE**, les **Délégations territoriales des ARS** et d'autre part les **services hospitaliers**, les **CLIN** ou les **services d'hygiène des établissements de soins**.

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

Toutes les données nous parvenant sont immédiatement transmises à l'**InVS** pour la coordination des investigations épidémiologiques et virologiques. L'**InVS** et les **CIRE** réalisent les investigations épidémiologiques. **Un point hebdomadaire téléphonique avec l'InVS** est réalisé tous les mardis pour coordonner et suivre au plus près les investigations virologiques et épidémiologiques.

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

#### o Les autres laboratoires de référence

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

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

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

- **Centre de Référence pour les Hépatites A et E**. AP.HP - Paris Paul Brousse (Pr Elisabeth DUSSAIX). Nous collaborons étroitement avec ce CNR, notamment pour les épidémies d'origine hydrique ou alimentaire. Par ailleurs ce CNR est intégré dans le même réseau européen « EVENT/DIVINE ».

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

## 2.3.2. Caractéristiques des épidémies (2006-2010)

### 2.3.2.1. *Nature et évolution des épidémies*

Les figures 16 et 17 montrent l'évolution du nombre des épidémies de janvier 2006 à février 2011. Cela représente 744 épidémies mais 640 survenues dans la deuxième moitié de la surveillance (novembre 2008-février 2011), c'est-à-dire une période englobant les périodes hivernales 2008-2009, 2009-2010 et une partie de l'hiver 2010-2011. Cette augmentation correspond surtout à une meilleure notification des épidémies de gastroentérites et donc une plus large investigation de celles-ci par notre CNR. Néanmoins, la surveillance systématique de 97 établissements pour personnes âgées (EHPA) de l'inter-région Nord-Est a montré que 50% de ces établissements ont été concernés par au moins une épidémie de gastro-entérites durant l'hiver 2008-2009. Ce pourcentage élevé pourrait refléter une augmentation de la fréquence des épidémies de gastro-entérites durant cette saison.

#### **Une saisonnalité hivernale très marquée :**

Les figures 16 et 17 montrent que la majorité des épidémies surviennent l'hiver, entre novembre et avril. Plus de 85% des épidémies analysées au CNR sont survenues durant cette période : 217 pour l'hiver 2008-2009 ; 179 pour l'hiver 2009-2010 et 183 de novembre 2010-février 2011. Cette saisonnalité concerne principalement les épidémies survenant en maison de retraite et dans les services hospitaliers. On ne retrouve pas ce caractère saisonnier pour les épidémies survenant lors de réceptions / banquets ou dans les restaurants.

#### **Contexte des épidémies :**

**Site ou établissement** (figure 16): La grande majorité des épidémies sont survenues dans des établissements pour personnes âgées ou maisons de retraites : 523 épidémies soit 68,5%. Les autres sites sont des services hospitaliers (95 épidémies : 12,4%), des réceptions (64 épidémies : 8,4%), des écoles (49 épidémies : 6,43%) et 21 épidémies sont survenues dans des collectivités d'adultes.

**Mode de transmission** (figure 17) : Dans 38,1% des épidémies, le mode de transmission est inconnu ou non renseigné. Le mode de transmission de personne à personne est incriminé pour 38,7% des épidémies. Mais pour la quasi-totalité des épidémies provenant de maisons de retraite ou des services hospitaliers le mode de transmission était de personne à personne ou non connu.

Figure 16 : Epidémies de gastroentérites selon le site durant la période 2006 - 2010

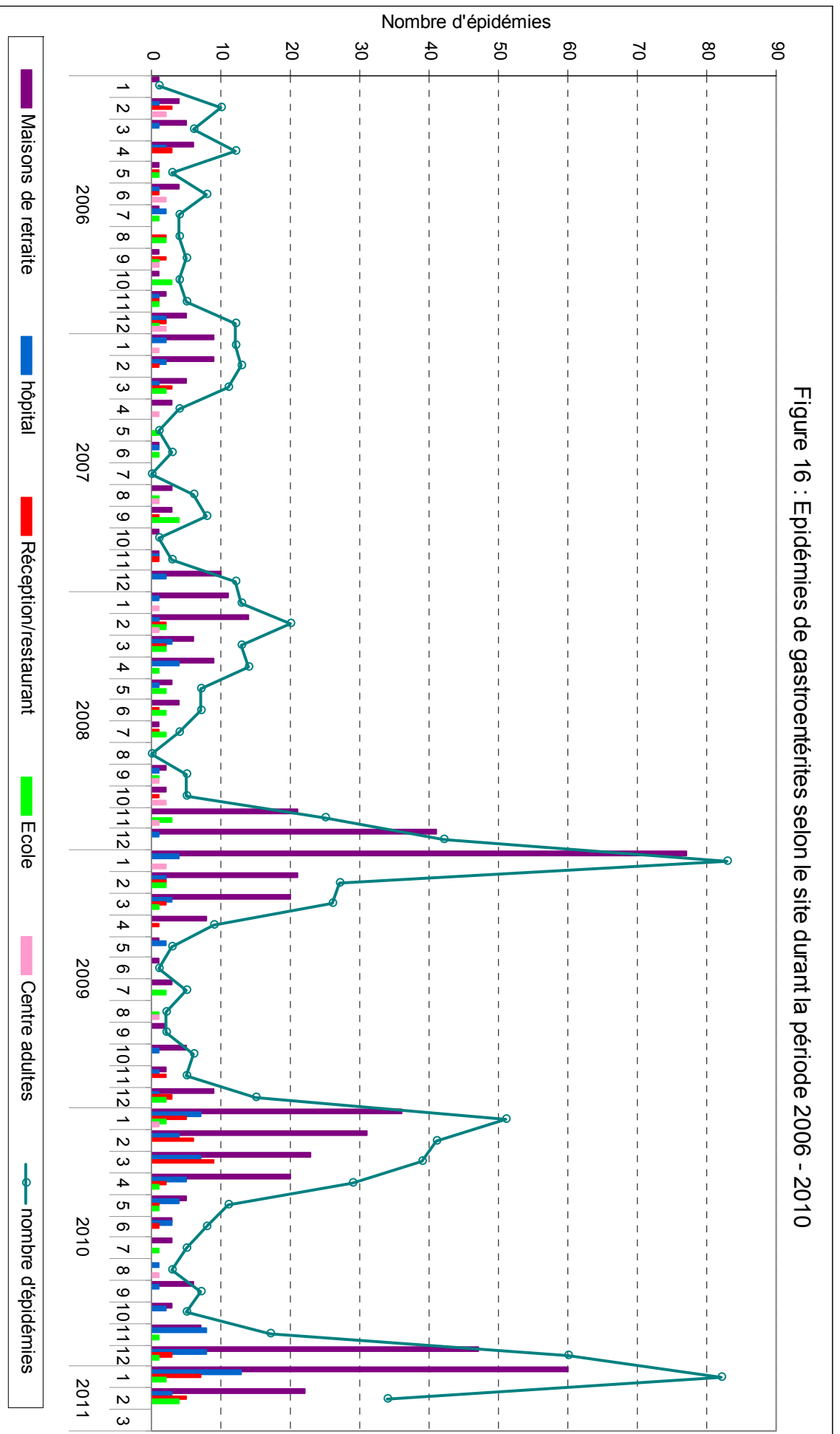
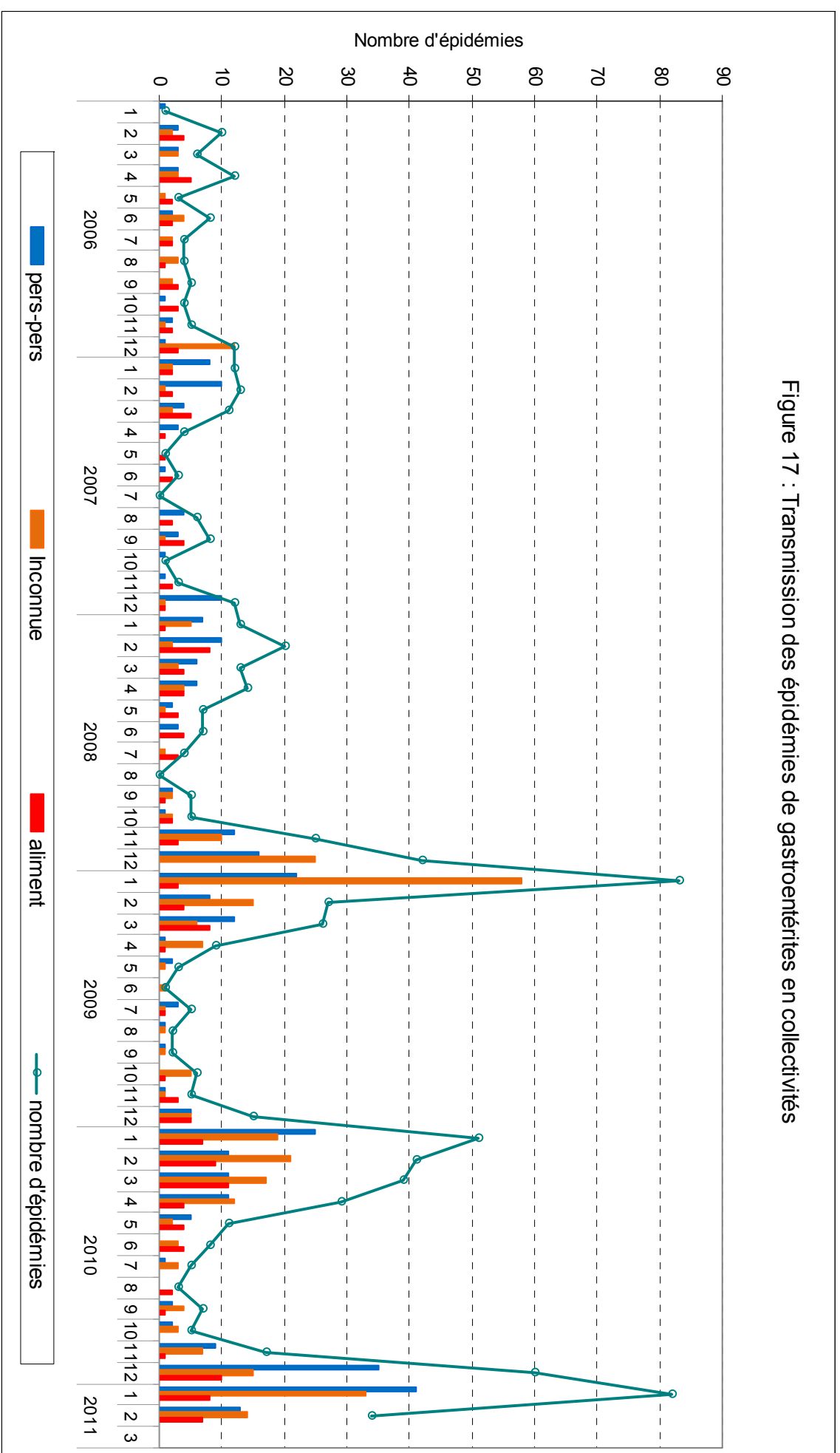


Figure 17 : Transmission des épidémies de gastroentérites en collectivités



### 2.3.2.2. *Virus en cause*

Dans la très grande majorité des cas le virus en cause est un **norovirus** (606 épidémies soit 93,5% des épidémies positives) et pour 541 épidémies (83,5%) il était le seul virus détecté (figure 18). Parmi les norovirus, ceux du génogroupe II (636 souches) et plus particulièrement le génotype 4 (GII.4 : 532 souches), sont largement prédominants (figures 19 et 20).

Dans 49 épidémies (7,6%) nous avons retrouvé un autre virus responsable (rotavirus, astrovirus, virus Aichi, adénovirus ou sapovirus pour les principaux).

Aucun virus n'a été détecté pour 132 épidémies soit 17,7% de l'ensemble des épidémies traitées.

**Les norovirus GII.4 sont de loin les plus fréquemment retrouvés lors des épidémies. Les norovirus GII.4 présentent une grande capacité évolutive.** Depuis 2002 de nouveaux variants apparaissent régulièrement (figure 21). Durant la période de surveillance sont d'abord apparus en 2006 les variants 2006a et 2006b qui ont co-circulé jusqu'à fin 2007. A partir de 2008, le variant 2006b est devenu largement prédominant. Les variants 2008 et 2010, très proches pour ce qui concerne leur capsid, ont remplacé le variant 2006b (figures 20 et 21).

#### **Caractéristiques des épidémies dues aux norovirus GII.4 (figure 22):**

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

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

Les **norovirus GIIB/GII.3** apparus pour la première fois en 2000 et en France ont continué à circuler tout au long de ces cinq années de surveillance, mais de façon sporadique. Nous avons dénombré 13 épidémies au total (2 à 5 par an). Ce génotype ne représente plus aujourd'hui un risque épidémiologique. Le mode de contamination est plus souvent par transmission de personne à personne et nettement plus rarement d'origine alimentaire que pour les autres génotypes.

Les **génotypes Gg/G1 et Gg/G12** sont génétiquement très proches. Ces génotypes sont apparus pour la première fois en octobre 2009 mais de façon significative à **partir de janvier 2010** (respectivement 2 et 8 cas). Au total, ces génotypes ont été détectés dans **29 épidémies depuis octobre 2009** (respectivement 10 et 19 épidémies). Pour 21 épidémies, il s'agissait du seul virus détecté ; pour 8 autres épidémies, on avait détecté plusieurs virus comme cause de l'épidémie.

Mode de transmission : 15 épidémies d'origine alimentaire, 7 d'origine inconnue et 7 par transmission de personne à personne.

Site de l'épidémie : 10 épidémies lors d'une réception (ou d'un repas), 7 dans des maisons de retraite, 7 dans des écoles, 3 dans des services hospitaliers et 2 dans un centre pour adultes.

Figure 18 : Virus responsables des épidémies. Période de 2006 à 2010

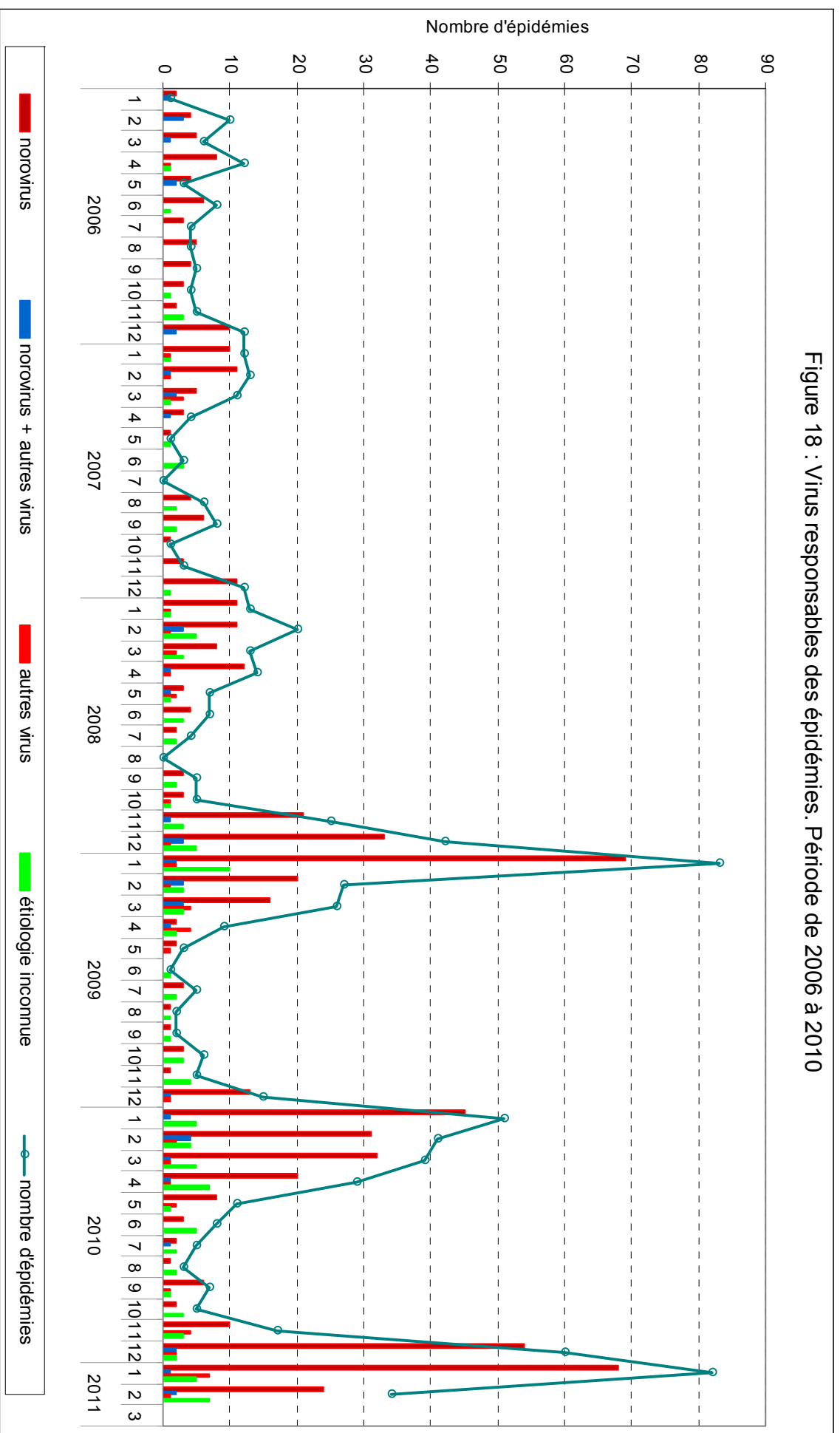


Figure 19 : Répartition des génogroupes de norovirus par épidémie

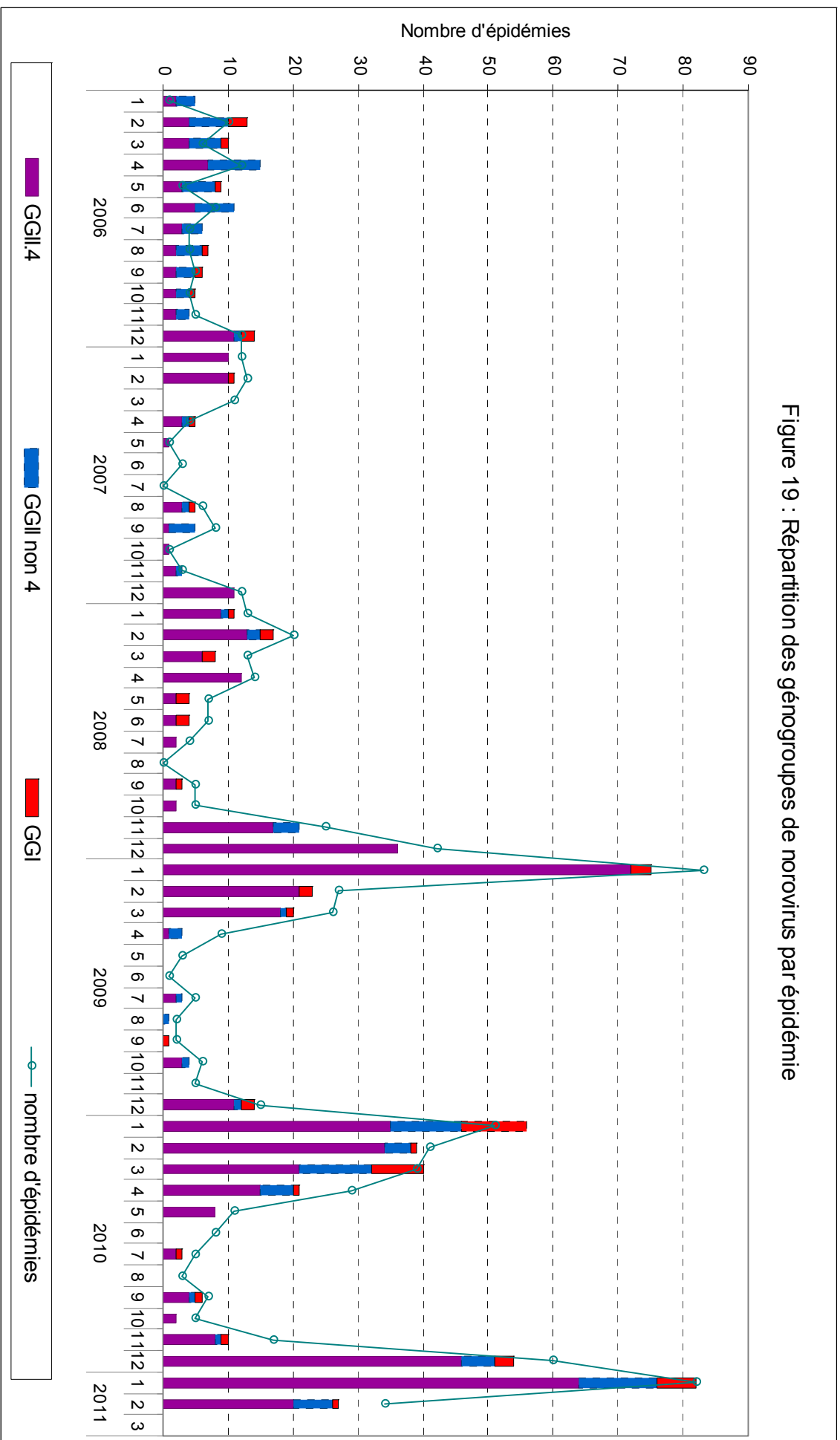
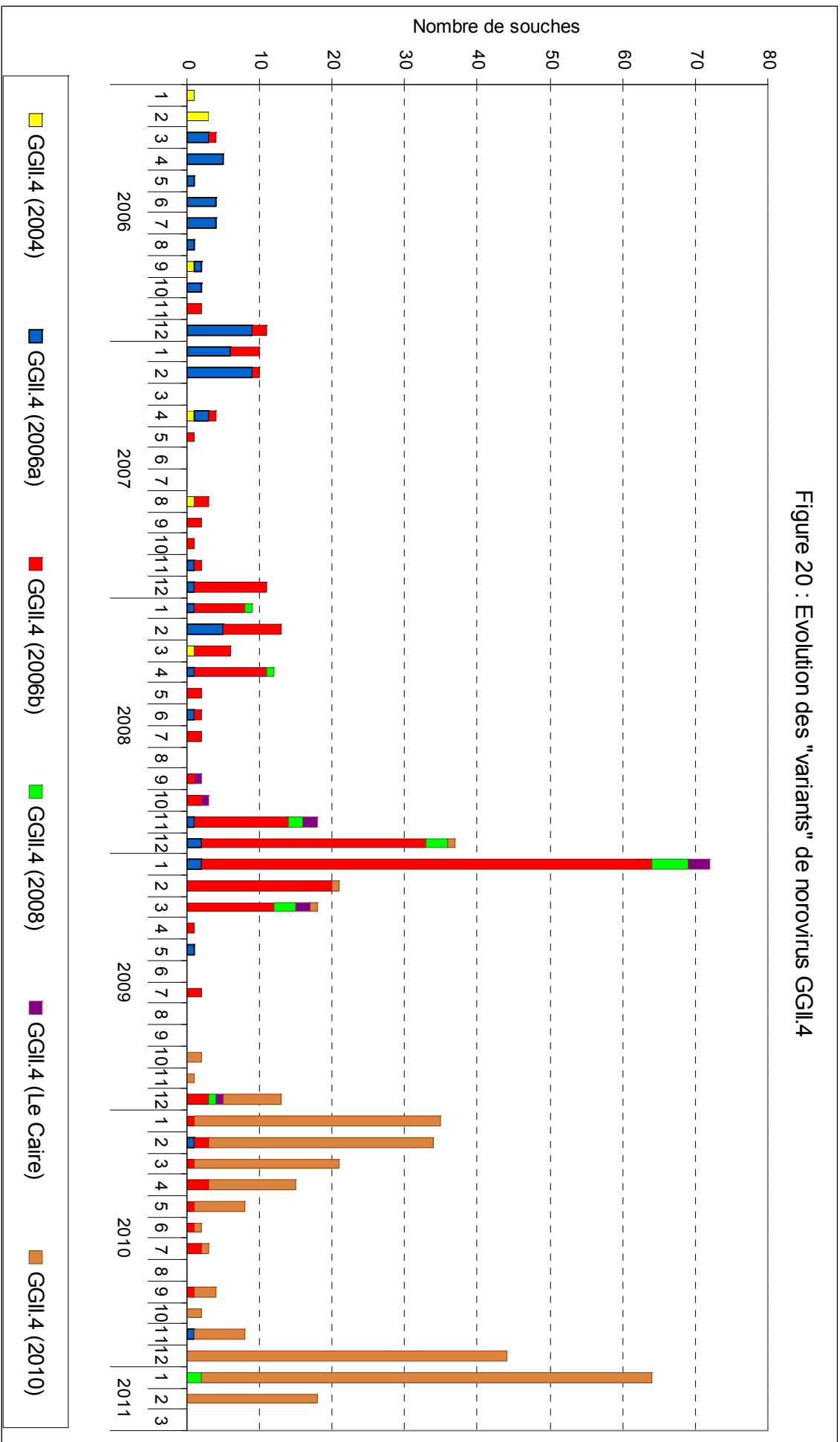


Figure 20 : Evolution des "variants" de norovirus GGII.4



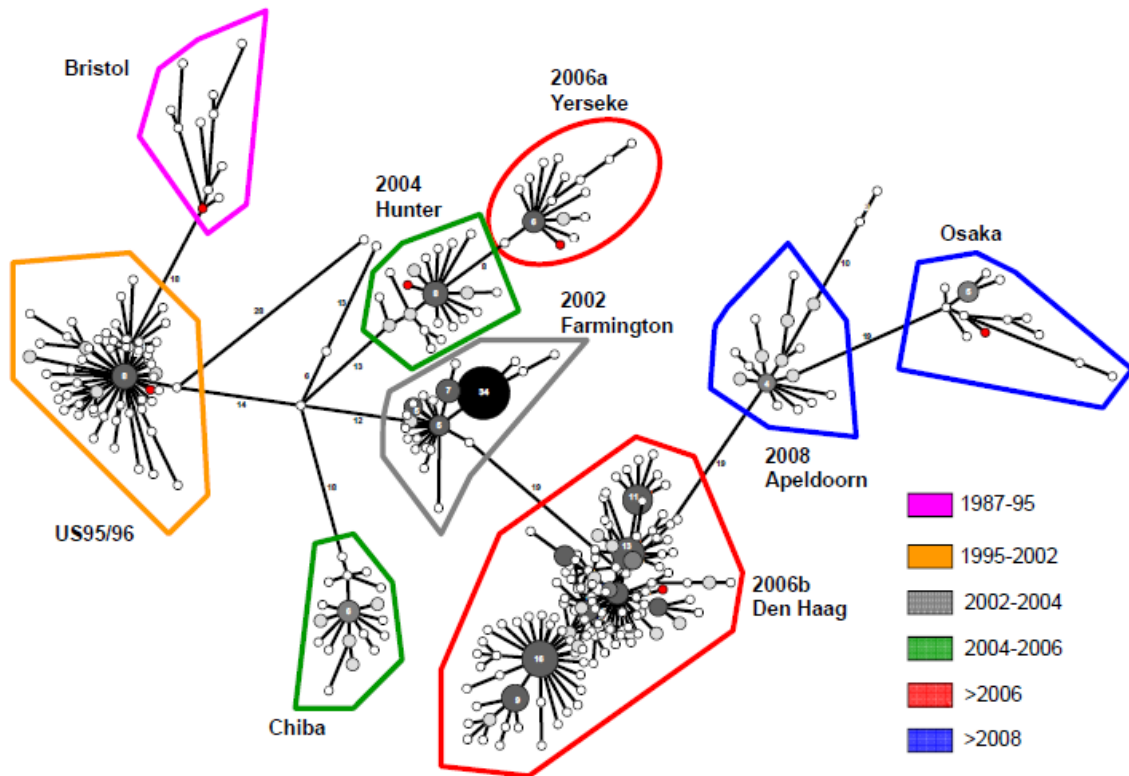


Figure 21 : Analyse phylogénétique des souches GII.4 dans l'ORF2 (codant la capside) sur un « arbre minimum couvrant ». Les variants 2006b dériveraient des souches « Farmington » détectées pour la première fois en 2002. Les variants 2006a dériveraient des souches « Hunter » détectées en 2004 ; les variants 2008 et 2010 seraient proches et dériveraient de la souche 2006b.

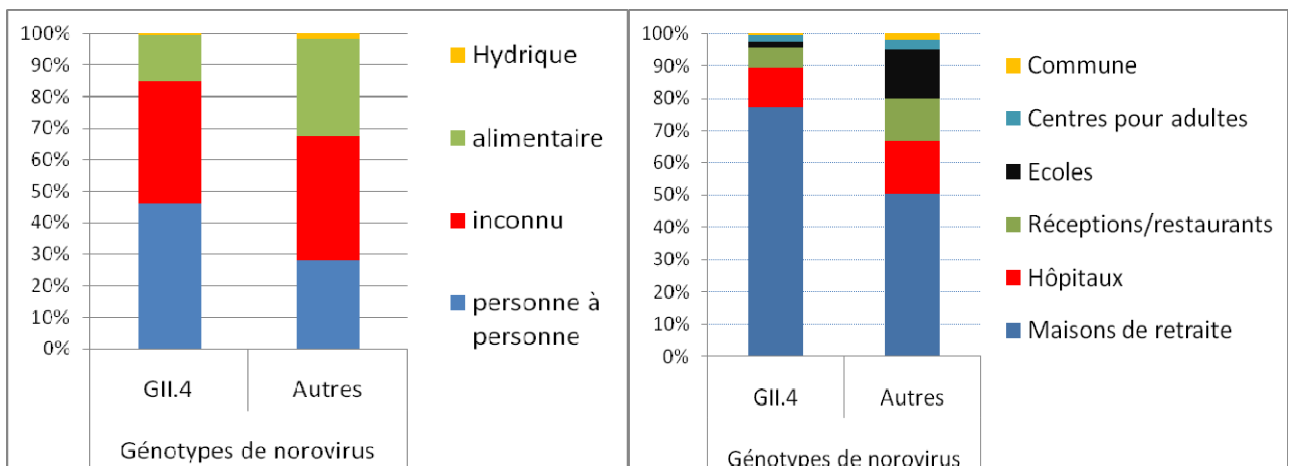


Figure 22 : Caractéristiques des épidémies dues aux norovirus de génotype GII.4 comparées à celles dues aux autres génotypes. Le mode de transmission de personne à personne est plus fréquent pour les épidémies à norovirus GII.4. Au contraire, une origine alimentaire est nettement moins fréquente dans les épidémies dues au génotype GII.4 que pour celles dues aux autres génotypes.

## 2.4. CONTRIBUTION AUX RESEAUX DE SURVEILLANCE INTERNATIONAUX

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

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

Le **réseau « EuroRotanet »** a pour mission la surveillance et la caractérisation des rotavirus responsables des gastroentérites chez les enfants. **Le CNR des virus entériques de Dijon a participé à la création de ce réseau européen.** Ce réseau nous permet une actualisation de nos techniques de caractérisation des génotypes de rotavirus et un partage des données virologique épidémiologique.

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

- *Composition des réseaux européens : Ces réseaux regroupent 14 laboratoires de 12 pays européens : **Pays Bas:** RIVM, Bilthoven (Dr M. Koopmans) ; **Finlande:** Helsinki University Central Hospital (Dr von Bonsdorff KH) ; **Danemark:** Virus Diagnostics Laboratory, Copenhague (Dr Böttiger) ; **Suède:** Karolinska Institute, Slona (Dr Svensson L) ; **Grande Bretagne:** Central Public Health Laboratory, London (Dr Brown D) ; **Allemagne:** Robert Koch-Institut, Berlin (Dr Schreier E) ; **Espagne:** Institut de Salud Carlos III, Madrid (Dr Sanchez A), Universitat de Barcelona (Dr Bosch A) et Universitat de Valencia (Dr Buesa J) ; **Italie:** Istituto Superiore di Sanità, Rome (Dr Ruggeri FM), **Slovénie :** Medical Faculty of Ljubljana (Dr. Poljsak-Prijatelj M) ; **Hongrie :** County Institute of State Public Health Service (Dr Szucs G) ; **France :** IFREMER (Dr Le Guyader S), CNR hépatites A et E-APHP Paul Brousse (E. Dussaix), CNR virus entériques-CHU Dijon (Pr Pothier P).*
- *Composition du réseau NoroNet : Europe (Pays-Bas, Grande-Bretagne, Allemagne, Hongrie, Suède et France) ; Amérique (USA, Canada, Nicaragua Venezuela, Chili) ; Asie Israël, Japon, Chine, Inde, Malaisie) ; Océanie (Australie et Nouvelle-Zélande).*

### 2.4.2. Collaborations « Egypte - Tunisie - Algérie - Maroc » (2006-2010)

Ces collaborations ont été soutenues par les **programmes CMCU et Hubert Curien** du Ministère des Affaires Etrangères et du Ministère de la Recherche. Nous avons formé **des étudiants tunisien et égyptien** aux techniques de diagnostic et de caractérisation moléculaire. Deux thèses d'Université, une en co-tutelle : Université de Bourgogne et Université de Monastir, Tunisie (Madame SDIRI-LOULIZI Khira) et une seconde de l'Université de Bourgogne (Mademoiselle KAMEL Aziza, de nationalité égyptienne) ont été soutenues respectivement en janvier et décembre 2009. D'autres étudiantes tunisiennes sont actuellement en stage dans notre laboratoire dans le cadre d'une thèse en co-tutelle. Il s'agit de Madame Mouna HASSINE-ZAAFRANE (quatrième année de thèse) et Madame Siwar AYOUNI (première année de thèse).

Nous avons accueilli durant 9 mois un **stagiaire marocain** (Dr Doblali T., Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V et Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat). Un projet de collaboration est soumis pour l'obtention d'une subvention.

Enfin, nous avons commencé une collaboration avec l'**Institut Pasteur d'Alger** afin d'y mettre en place les techniques de caractérisation moléculaire des rotavirus.

Les populations de ces pays ont des liens très forts avec l'Europe. Les gastroentérites virales y sont très fréquentes avec pour conséquence la circulation d'une diversité de souches virales et le risque d'émergence de certaines d'entre elles. Ces collaborations ont donc pour objectif une surveillance de l'épidémiologie des virus entériques dans la population et dans l'environnement des pays du pourtour méditerranéen afin d'anticiper un risque de diffusion en Europe. Ces études nous ont également permis de mieux comprendre le rôle des virus « nouveaux » comme le virus Aichi dans les gastro-entérites. (Publications n° 19, 28, 30, 23-35, 38-40, 50).

#### **2.4.3. Collaborations « Iran – Niger – Burkina Faso » (2010-2011)**

**Dès 2008** nous avons entrepris une collaboration avec un laboratoire iranien de l'Université de Téhéran. En 2009-2010, nous avons commencé une étude épidémiologique sur les virus entériques avec l'étudiante accueillie et son nouveau laboratoire d'accueil, le département de Biotechnologies du « RAZI Vaccine and Serum Research Institute » (responsable Dr Mirjalili A.). Les événements politiques ont retardé ce projet. Une mission initialement prévue en 2010 a été repoussée à 2011 par le Ministère des Affaires Etrangères.

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

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

**En 2010** nous avons commencé une collaboration avec le **Burkina Faso** prévoyant l'accueil d'un stagiaire en juillet 2011 et la mise en place des techniques de bases pour une étude moléculaire des rotavirus.

#### **2.4.4. Collaboration avec le Réseau International des Instituts Pasteur**

**2010-2011** : Nous participons au comité de suivi du programme « Infections entériques graves » organisé via l'Institut Pasteur et son Réseau International (responsables Sansonetti P et Victor K). notre objectif est d'implanter dans les Instituts Pasteur de Bangui (République Centrafricaine) et de Madagascar les techniques de diagnostic moléculaire des virus entériques -essentiellement rotavirus et norovirus - responsables de gastroentérites. L'objectif étant une analyse moléculaire et épidémiologique des virus entériques circulant dans ces pays.

#### **2.4.5. Contributions de notre laboratoire (2010-2011)**

- Participation à la surveillance des épidémies à l'échelle européenne. Etude de **l'épidémiologie des virus responsables de gastroentérites et plus particulièrement les norovirus** (publications n°14 15, 17, 19, 20, 23, 24, 25, 29, 30, 35, 37, 43, 44).
- Participation à une étude multicentrique d'**évaluation des trousse de détection des norovirus** par immuno-enzymologie (publication 16).
- **Etude phylogénétique des norovirus et autres calicivirus**, surveillance des nouvelles souches (publications 28, 33, 36, 40, 46, 49).

- Animation ou participation à un réseau de **surveillance des rotavirus** (publications n° 27, 31, 32, 41, 42, 45).
- Etude de l'**épidémiologie et de la pathogénicité des virus Aichi** (publications n° 18, 22, 24, 34, 38, 39).

## 2.5. ETUDES PONCTUELLES CONCOURANT A LA SURVEILLANCE

### 2.5.1. Epidémiologie des rotavirus dans les crèches de Lyon (2007-2008).

Ce travail a été effectué en collaboration avec le service de Pédiatrie de l'Hôpital Edouard Herriot à Lyon (Pr D Floret), le laboratoire de virologie de Lyon (Pr B Lina), les laboratoires Sanofi-Pasteur MSD (Dr L Marcelon) et la Société Biostatem (Dr S Pinchinat).

**Principaux résultats et conclusions** (Publications n°6 et 8) : Le test d'immuno-chromatographie utilisé dans cette étude est fiable lorsqu'il est utilisé en ambulatoire. Cette étude a également montré l'émergence de rotavirus de génotype G9P[8] dans cette population. Ce phénomène a aussi été observé dans d'autres pays (Pays-Bas, Espagne, Belgique).

### 2.5.2. Efficacité des désinfectants et antiseptiques sur le norovirus murin (2008).

**Principaux résultats et conclusions** (Publication n° 21) :

- Les norovirus murins (MNV) constituent un substitut intéressant pour l'étude de la résistance des NoV aux antiseptiques et aux facteurs environnementaux.
- La quantification par RT-PCR en temps réel ne reflète pas le caractère infectieux du virus après traitement.
- Les **MNV sont plus ou moins résistants selon les produits testés, notamment certaines solutions hydro-alcooliques.**
- L'eau de Javel est le produit le plus efficace sur les norovirus

### 2.5.3. Comparaison de la sévérité des gastroentérites selon le génotype de rotavirus (2009-2010)

Ce travail a été conduit d'une part en collaboration avec le service de Pédiatrie Générale de l'hôpital Saint Vincent de Paul de l'AP-HP et d'autre part avec les données cliniques de notre réseau rotavirus. Nos résultats ne mettent **pas en évidence de différence de sévérité entre les génotypes de rotavirus**, notamment entre les génotypes G1 et G9 (Publication n°32).

### 2.5.4. Virus Aichi : études virologique et épidémiologique (2008-2010)

Le virus Aichi est de découverte relativement récente. Même si sa classification est bien établie au sein de la famille des *Picornaviridae* et du genre *Kobuvirus*, ce virus reste encore méconnu sur le plan virologique, épidémiologique et clinique. Les études portant sur ce virus sont peu nombreuses et ne permettent pas d'en dégager un rôle pathogène clairement défini. Les travaux de notre CNR ont apporté une meilleure connaissance sur ce virus, son épidémiologie et sa pathogénicité et son rôle dans les gastroentérites. Les résultats de nos travaux sont présentés dans les publications 18, 22, 24, 34, 38, 39.

### 2.5.5. Calicivirus bovin et nouveau génotype de *Nebovirus* (2010)

Ce travail a été effectué en collaboration avec le laboratoire départemental de Côte d'Or (Dr E. Gueneau et Dr P. Asdrubal).

**Principaux résultats et conclusions** (Publication n°47) :

→ Les calicivirus bovins sont endémiques en France, avec un taux de détection de 24,8%. Parmi eux, les norovirus de génogroupe III prédominent, avec une prévalence de 19,5%, tandis que les nebovirus sont retrouvés dans 7,5% des cas.

→ Parmi les norovirus de génogroupe III, l'incidence la plus forte est observée pour les souches de génotype 2 (14%) par rapport aux souches de génotype 1 (5,5%).

→ Les souches de nebovirus identifiées sont toutes apparentées à la souche de référence Bo/Nebraska/80/US, exceptée une souche. Cette souche pourrait représenter un **nouveau génotype potentiel de nebovirus**, différent des souches Nebraska et Bo/Newbury1/76/UK jusque-là décrites.

#### **2.5.6. Diarrhées chroniques à norovirus chez le transplanté (2010)**

En collaboration avec les équipes de transplantation de l'hôpital Necker, nous avons montré que les norovirus et sapovirus étaient fréquemment à l'origine de diarrhée chronique chez les transplantés de reins (Publication 48). Les génotypes viraux en cause étaient ceux retrouvés dans la population. Pour 10 des 13 patients ayant eu un suivi virologique, l'excrétion virale s'est prolongée plus de 27 jours (27 à 581 jours). Ces diarrhées chroniques se sont compliquées d'une insuffisance rénale aiguë (81%) ou d'un rejet du greffon (5/16 cas). L'identification de l'étiologie virale a permis d'adapter le traitement immunosuppresseur.

Ce travail est actuellement poursuivi par une information aux équipes de transplantation (présentations lors de manifestations scientifiques et autres moyens de communications). Le CNR des virus entériques travaille les services de transplantation et de virologie de 23 Centres Hospitaliers (essentiellement des CHU).

#### **2.5.7. Etude des interactions norovirus-récepteurs glycanes (2010)**

La surveillance accrue des épidémies de NoV et l'amélioration des techniques de génétique moléculaire ont permis de montrer la prédominance des NoV de type GII.4. L'apparition d'un nouveau type de variant à partir de 2002, le variant Farmington, a vu un changement dans la circulation des NoV GII.4 avec des variants circulant de façon prédominante pour une période de 3 ans pour ensuite disparaître au profit d'autres.

A partir de ce constat épidémiologique, l'objectif de nos travaux a été d'établir un lien entre les observations faites au cours des épidémies de gastroentérites et les propriétés de ces variants au niveau moléculaire. L'analyse de plusieurs variants, isolés entre 1987 et 2007, a permis de démontrer que l'apparition de ceux-ci après 2002 s'était accompagnée d'une affinité accrue pour les antigènes tissulaires des groupes sanguins, récepteurs naturels des NoV humains. D'autre part, nous avons démontré que le variant 2006b, très prédominant ces dernières années, avait la capacité d'infecter 95% (sécréteurs et non sécréteurs) de la population au lieu des 80% (sécréteurs) toujours observés pour les autres variants GII.4. Ces travaux ont ainsi permis d'établir le lien entre la grande prédominance de certains variants GII.4, en particulier les variants 2006b, et leur capacité accrue d'accroche avec les récepteurs des cellules intestinales (publication 46).

Les nouvelles techniques d'investigation acquises dans le cadre de cette étude nous fournissent ainsi de nouveaux outils pour étudier l'impact des NoV dans la population.

### 3. ALERTE

#### 3.1. CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC L'INVS

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

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

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

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

- ✓ **Faxer** au demandeur les **4 formulaires** de la pochette « Épidémie : protocole et formulaires à faxer » (classeur « Formulaires ») **ou** les envoyer par **e-mail** (S:\CNR Virus Entériques\Modèles\Formulaires épidémie e-mail).
- ✓ Déterminer l'**identifiant de l'épidémie** (code à garder tout au long de l'épidémie) de la manière suivante :  
*code département – 2 premières lettres de la ville – mois – année*  
(Exemple : épidémie à La Baule en mars 2006 = 44BA0306)
- ✓ Entrer ces premières informations dans la base **Voozanoo** de l'InVS (<https://voozanoo.invs.sante.fr>) :
  - ◆ Vérifier s'il n'existe pas déjà une fiche enregistrée par l'InVS pour cette épidémie
  - ◆ Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à l'InVS, créer une nouvelle fiche

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

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

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

- ✓ Suivre la procédure décrite pour une épidémie annoncée par téléphone.
- ✓ Si les prélèvements ne sont pas accompagnés des formulaires du CNR, envoyer au prescripteur, par fax ou par mail, le formulaire n° 2 (fiche globale) pour avoir des renseignements sur l'épidémie.

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

### 3.3. PROCEDURES DE TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS DES CAS GROUPE DE GEA

#### 3.3.1. Procédures de traitement d'une épidémie.

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

#### AVIS D'EPIDEMIE DE GEA ou TIAC

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

- ✓ **Faxer** au demandeur les **4 formulaires** de la pochette « Épidémie : protocole et formulaires à faxer » (classeur « Formulaires ») **ou** les envoyer par **e-mail** (S:\CNR Virus Entériques\Modèles\Formulaires épidémie e-mail).
- ✓ Déterminer l'**identifiant de l'épidémie** (code à garder tout au long de l'épidémie) de la manière suivante :  
*code département – 2 premières lettres de la ville – mois – année*  
(Exple : épidémie à La Baule en mars 2006 = 44BA0306)
- ✓ Dans la liste « **Épidémies annoncées/reçues** » (chemise violette, casier « Épidémies en attente ») : vérifier s'il n'existe pas le même identifiant ou si l'épidémie n'a pas déjà été annoncée ; compléter la liste.

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

- de même, en cas d'ambiguïté sur l'identifiant de l'épidémie (Exple : épidémie à Batz-sur-mer également en mars 2006 : 44BA0306/2)

- ✓ Compléter une feuille **Premières informations** (classeur « Formulaires ») à ranger dans la chemise violette du casier « Épidémies en attente ».
- ✓ Entrer ces premières informations dans la base **Voozanoo** de l'InVS (<https://voozanoo.invs.sante.fr>) :
  - ◆ Vérifier s'il n'existe pas déjà une fiche enregistrée par l'InVS pour cette épidémie
  - ◆ Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à l'InVS, créer une nouvelle fiche

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

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

##### □ Arrivée de prélèvements sans annonce préalable :

- ✓ Suivre la procédure décrite pour une épidémie annoncée par téléphone.
- ✓ Si les prélèvements ne sont pas accompagnés des formulaires du CNR, envoyer au prescripteur, par fax ou par mail, le formulaire n° 2 (fiche globale) pour avoir des renseignements sur l'épidémie.

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

#### RECEPTION DES PRELEVEMENTS

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

□ **Enregistrer les prélèvements :**

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

□ **Mettre toutes les données dans une chemise identifiée par :**

- ◆ le **nom de la ville** qui a inspiré le numéro d'identifiant
- ◆ l'**identifiant épidémie** correspondant
- ◆ le **numéro** du carton suivi du numéro de la chemise (Exple : 15.03 correspond au carton en cours n°15, la chemise n°3 dans ce carton)
- ◆ les **numéros des échantillons** correspondants (E.... à E....)

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

## ANALYSES

□ **Extraction des acides nucléiques :**

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

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

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

- ◆ Recherche immuno-enzymologie :
  - Adénovirus 40-41 (Elisa Meridian)
  - Astrovirus (Elisa Oxoid)
  - Rotavirus du groupe A (Elisa Méridian)
- ◆ Si Elisa positif(s) :
  - Rotavirus du groupe A (RT-PCR)
  - Astrovirus (RT-PCR Mon244/Mon245 et si nécessaire Mon269/Mon270)
  - Adénovirus (PCR Adv-hex1deg/hex2deg)

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

□ **Épidémie liée à l'eau ou aux coquillages :**

- ✓ Recherche de norovirus, adénovirus, astrovirus et rotavirus du groupe A par **PCR Seeplex**. Si la PCR Seeplex est positive pour un ou plusieurs virus réaliser :
  - ◆ Norovirus en One Step : polymérase (amorces JV12/JV13) et capsid (amorces GISKF/GISKR et/ou GIISKF/GIISKR)
  - ◆ Adénovirus (PCR Adv-hex1deg/hex2deg)
  - ◆ Astrovirus (RT-PCR Mon244/Mon245 et si nécessaire Mon269/Mon270)
  - ◆ Rotavirus du groupe A (nouvelle technique)
- ✓ Recherche de sapovirus dans la polymérase (amorces SR80/NVP110)
- ✓ Recherche des entérovirus (amorces E1-E2)
- ✓ Recherche du virus Aichi : polymérase (amorces AI6261/AI6779)
- ✓ Recherche de l'hépatite A (amorces HAV1-HAV2)

□ **Typage par séquençage des produits de PCR :**

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

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

**RENDU DES RESULTATS**

□ **Rendre les résultats préliminaires :**

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

□ **Rendre les résultats définitifs dans LAB 400 :**

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

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

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

- ✓ Un **compte rendu** (à imprimer en plusieurs exemplaires) pour :
  - ◆ la chemise de l'épidémie
  - ◆ P. Pothier
  - ◆ la ARS (ou CIRE)

- ◆ le laboratoire expéditeur
  - ◆ le(s) prescripteur(s)
- ✓ Un **tableau récapitulatif** de l'épidémie (à imprimer en 3 exemplaires) pour :
- ◆ la chemise de l'épidémie
  - ◆ P. Pothier
  - ◆ le classeur Fiches épidémies
- **Pour les calicivirus séquencés :**
- ◆ Compléter **l'alignement des souches en fonction du génotype** (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Alignement séquences)
  - ◆ Entrer le numéro des échantillons séquencés dans les **tableaux norovirus** et/ou **sapovirus** (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats\Liste des échantillons par virus)
- **Entrer les données épidémiologiques et moléculaires (S:\CNR Virus Entériques\Rendu Résultats) :**
- ◆ Dans la base **Voozanoo** de l'InVS (<https://voozanoo.invs.sante.fr>)  
*Rem : Pour les épidémies annoncées mais non reçues, ne pas oublier d'entrer aussi les données*
  - ◆ Dans le dossier « **Banques de données** », tableau « Bq données Externes »
  - ◆ Dans le dossier « **Récapitulatifs ext et hosp** », tableaux « Récapitulatif échantillons Externes » et « Récapitulatif Épidémies »
  - ◆ Dans le dossier « **Liste des échantillons par virus** » (hors calicivirus)
  - ◆ Dans le dossier « **CNR Entérovirus Lyon** », « Tableau récapitulatif mensuel 200\_ »
  - ◆ Sur le site du réseau européen **FBVE** (<http://secure.rivm.nl/mpf/norovirus/database>)

## ECHANTILLON HOSPITALISE OU EXTERNE HORS CONTEXTE EPIDEMIQUE (CAS SPORADIQUE)

### RECEPTION DU PRELEVEMENT

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

### ANALYSES

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

**Remarque :** Penser à copier les manips sur le cahier EXTERNE.  
Synthétiser les résultats sur la liste de travail à la fin de chaque manip.

### RENDU DES RESULTATS

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

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

- ◆ Dans le dossier « **Banques de données** », tableau « Bq données Hospitalisés »
- ◆ Dans le dossier « **CNR Entérovirus Lyon** », « Tableau récapitulatif mensuel 200\_ »
- ◆ Dans le dossier « **Liste des échantillons par virus** »
- ◆ Dans le dossier « **Récapitulatifs ext et hosp** », tableau « Récapitulatif Hospitalisés »

□ **Pour les Externes** :

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

### **3.3.2. Protocoles d'envoi d'échantillons de selles.**

### **3.3.3. Formulaire accompagnant les envois.**

Renseignements disponibles sur le site :

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

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



## *Laboratoire de Virologie*

### *Centre National de Référence des Virus Entériques*

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

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

##### **Recueil des échantillons :**

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

##### **Réalisation du colis :**

- **Les prélèvements doivent être envoyés dans un triple emballage conforme à la réglementation en vigueur pour le transport des échantillons cliniques (arrêté ADR<sup>1</sup>) :**
  - ✓ Déposer les flacons (*réipients primaires*), entourés de papier absorbant, dans un sachet plastique ou une boîte rigide (plastique, métallique...) à fermeture hermétique (*emballage secondaire*), puis dans une boîte en carton ou polystyrène (*emballage extérieur*), avec interposition de matières de rembourrage appropriées.
  - ✓ Apposer sur la surface extérieure du colis la désignation « Matière Biologique, catégorie B » près de la mention UN 3373 en forme de losange.



##### **Conditions d'envoi :**

- **Le colis est à envoyer à température ambiante (max. 25°C) ou réfrigéré (max. 4°C) dans un délai rapide (48-72h) par voie postale ou par transporteur agréé.**
- Pour éviter les délais d'acheminement trop longs, il est souhaitable d'effectuer l'envoi en début ou en milieu de semaine (laboratoire ouvert tous les jours sauf le dimanche).
- Expédier le colis à l'adresse suivante :  
**Centre National de Référence des Virus Entériques  
Laboratoire de virologie  
CHU – Plateau Technique de Biologie  
2, rue Angélique Ducoudray  
BP 37013  
21070 DIJON CEDEX**

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



Centre Hospitalier  
Universitaire de Dijon

*Laboratoire de Virologie*

*Centre National de Référence  
des Virus Entériques*

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

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

- Expéditeur du colis** (pour le rendu de résultats) :
  - Nom
  - Institution
  - Adresse
  - Téléphone
- Médecin demandant l'investigation** (pour le rendu de résultats):
  - Nom
  - Institution
  - Adresse
  - Téléphone

Étiquette à découper et à coller sur le colis :

**Nombre d'échantillons envoyés :**

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



**MATIERE BIOLOGIQUE  
CATEGORIE B**



Centre Hospitalier  
Universitaire de Dijon

## Laboratoire de Virologie

### Centre National de Référence des Virus Entériques

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

## RENSEIGNEMENTS EPIDEMIOLOGIQUES FORMULAIRE N°2 – FICHE GLOBALE

**Référent (nom, qualité) :**

**Caractéristiques de l'épidémie :**

- Lieu** (Hôpital, maison de retraite, école, restaurant, domicile...) :  
.....
- Date d'apparition des signes** : - pour le premier cas : ...../...../.....  
- pour le dernier cas : ...../...../.....
- Date de fin d'épidémie** : ...../...../.....
- Nombre de cas** : .....  
Dont nombre de patients hospitalisés suite à l'épidémie : .....  
Dont nombre de patients décédés suite à l'épidémie : .....
- Nombre de personnes exposées** : .....
- Nombre de cas dans les groupes d'âges suivants** :  
0-4 ans : ..... 15-64 ans : .....  
5-14 ans : ..... >65 ans : .....
- Mode de transmission suspecté** :
  - Personne à personne
  - Alimentaire (hors coquillage)
  - Alimentaire puis personne à personne
  - Coquillage
  - Hydrique
  - Inconnu

Si alimentaire, préciser : - date du repas : ...../...../.....  
- aliment(s) incriminé(s) : .....  
- investigation virale des aliments : oui  non
- Durées moyennes** : - de l'incubation : ..... - des signes : .....
- Signes cliniques** : - Nombre de cas avec : - vomissements uniquement: .....  
- diarrhées uniquement : .....  
- diarrhées et vomissements : .....
- Autres signes cliniques:** .....
- Analyses microbiologiques (bactériologie & parasitologie) réalisées** : oui  non 

Si oui, préciser : - nombre de patients: .....  
- résultats: .....



Centre Hospitalier  
Universitaire de Dijon

## *Laboratoire de Virologie*

### *Centre National de Référence des Virus Entériques*

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

#### RENSEIGNEMENTS EPIDEMIOLOGIQUES FORMULAIRE N°3 – FICHE INDIVIDUELLE

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

\*Cocher les cases concernées

## **4. ACTIVITE DE CONSEIL AUX PROFESSIONNELS OU AUX AUTORITES DE SANTE. INFORMATION ET FORMATION**

### **4.1. PARTICIPATION AUX COMMISSIONS SPECIALISEES ET ACTIVITE D'EXPERTISE**

- **COMMISSION AFSSA (2003-2006)**

Nous avons présidé un groupe de travail de l'AFSSA « virus transmissibles à l'homme par voie orale » composé d'une quinzaine de membres. Ce groupe a commencé ses travaux en juin 2003 et ceux-ci se sont poursuivis durant les années 2004 et 2005. La présentation officielle du rapport a eu lieu en juin et juillet 2006. **Ce rapport a été édité en 2007.**

- **ACTIVITE D'EXPERTISE AUPRES DE L'EURO CDC (2006)**

En 2006 nous avons participé à un groupe d'experts réuni par l'Euro CDC à Stockholm à la suite de plusieurs épidémies survenues sur des bateaux de croisière durant le premier semestre 2006.

- **HAUT CONSEIL DE SANTE PUBLIC (2006-mars 2011)**

Le responsable du CNR des virus entériques a été membre du HCSP et à ce titre expert de dossiers dont certains concernent le domaine des gastroentérites :

- Groupe de travail sur la vaccination rotavirus (2009-2010).
- Groupe de travail « gastro-entérites et personnes âgées » (2009-2010) ayant débouché sur les recommandations relatives aux conduites à tenir devant des gastro-entérites aiguës dans les collectivités de personnes âgées

### **4.2. ACTIVITE DE CONSEIL :**

- Aides à d'autres laboratoires (transmission de souches de référence, soutien technique ou autre) :
  - Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur la Qualité des Aliments et sur les Procédés agroalimentaires (2006).
  - Laboratoire Ampligène (2006).
  - Laboratoire d'analyses de Veolia (2006-2008).
  - Laboratoire CEERAM (2006-2008)
  
  - Divers laboratoires d'analyses Médicales (2006-2010).
  - Divers services de longs séjours, services hospitaliers (2006-2010).
  - Laboratoire Nestlé (2007-2010).
  - Laboratoire de contrôle Qualité, BioMérieux (2006-2010).
- Conseils téléphoniques destinés à des collègues biologistes, médecins hygiénistes, médecins épidémiologistes (ARS, CIRE), médecins cliniciens.

### **4.3. ENCADREMENT DE STAGIAIRES :**

- Encadrement d'étudiants en Médecine et Pharmacie, de stagiaires de l'IUT.
- Encadrement de stagiaires de l'Institut de Formation de Techniciens en Analyses Biomédicales, CHU de Tours (Olivier DELLINGER).

- Encadrement d'une stagiaire post-doct-doctorant iranienne en 2008 (Madame Farzaneh POURASGARY).
- Encadrement d'une étudiante tunisienne (Madame Khira SDIRI-LOULIZI). La thèse en co-tutelle a été soutenue le 17 janvier 2009.
- Encadrement d'une étudiante égyptienne (Mademoiselle Aziza KAMEL). La thèse a été soutenue le 8 décembre 2009.
- **2009 – 2010** : Encadrement d'une stagiaire tunisienne en thèse en co-tutelle (Madame Mouna HASSINE-ZAAFRANE)
- **Depuis 2010**, encadrement d'une étudiante tunisienne en thèse en co-tutelle (Madame Siwar AYOUNI)
- Stagiaire marocain du 1<sup>er</sup> **mars 2009 à janvier 2010** (Monsieur Taoufik DOBLALI).
- Stagiaire nigérien du 1<sup>er</sup> **mai 2010 au 30 juin 2010** (Monsieur Lagare ADAMOU). Accord avec l'association à but non lucratif « Epicentre » (Paris) et le laboratoire CERMES (Niamey, Niger).

## E. PUBLICATIONS, COMMUNICATIONS ET CONTRATS

### 1. PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

#### 1.1. Publications nationales

##### 2006

1. Pothier P, Agnello D. Les rotavirus et leur prevention. *Spectra biologie*, 2006, 150, 23-27
2. Odelin MF, Ruel N, Berthelot P, Diana MC, Blanchon MA, Omar S, Bourlet T, Kohli E, Gonthier R, Pothier P, Pozzetto B. Investigation d'une épidémie de gastro-entérite à norovirus dans un hôpital gériatrique. *Ann Biol Clin*(Paris). 2006; 64: 141-7.

##### 2007

3. Bon F, Kaplon J, Metzger MH, Pothier P. Evaluation of seven immunochromatographic assays for the rapid detection of human rotaviruses in fecal specimens. *Pathol Biol (Paris)*. 2007 ; 55 : 149-53.
4. Jourdan-Da Silva N, Delmas G, Balay K, Poujol I, Josseran L, Blanchon T, Turbelin C, Pothier P, Vaillant V. Épidémie hivernale de gastro-entérites aiguës en France, 2006-2007. *BEH*, 2007: 1-52 ; 449-452.

##### 2008

5. Huet F, Chouchane M, Cremillieux C, Aubert M, Caulin E, Pothier P, Allaert FA. [Prospective epidemiological study of rotavirus gastroenteritis in Europe (REVEAL study). Results in the French area of the study.] *Arch Pediatr*. 2008 ; 15 : 362-374.
6. Fau C, Billaud G, Pinchinat S, Lina B, Kaplon J, Pothier P, Derrough T, Marcelon L, LARGERON N, Caulin E, Bellemin B, Nong TC, Gaspard C, Mamoux V, Floret D. [Epidemiology and burden of rotavirus diarrhea in day care centers in Lyon, France.] *Arch Pediatr*. 2008 (7): 1183-92.
7. De Rougemont A, Balay K, Belliot G, Aho-Glélé L-S, Pothier P. Actualité des gastroentérites virales en établissement de soins et d'hébergement. *Hygiène*, 2008 ; 16 : 451-456.

##### 2009

8. de Rougemont A, Kaplon J, Billaud G, Lina B, Pinchinat S, Derrough T, Caulin E, Pothier P, Floret D. [Sensitivity and specificity of the VIKIA((R)) Rota-Adeno immuno-chromatographic test (bioMérieux) and the ELISA IDEIA trade mark Rotavirus kit (Dako) compared to genotyping.]. *Pathol Biol (Paris)*. 2009 ; 57(1):86-9.

##### 2010

9. De Rougemont A, Balay K, Belliot G, Pothier P. Actualités sur les norovirus *Med Sciences*, 2010 ; 1 : 73-78.
10. Carrillo-Santistevé P, Ambert-Balay K, Arena C, Poujol I, Caillère N, Delmas G, Nathalie Jourdan-Da Silva. Épidémies hivernales de gastro-entérites aiguës en France, bilan de trois saisons (2006/2007, 2007/2008 et 2008/2009). *BEH*, 2010 : 31-32; 349-352.
11. de Rougemont A, Kaplon J, Fontana C, Pothier P et le Réseau rotavirus. Diversité génotypique des infections à rotavirus de l'enfant aux urgences pédiatriques en France entre 2006 et 2009. *BEH*, 2010 : 37 ; 385-389.
12. Lecarpentier T, Benezit A, Marostica A, Brasme JF, Vallet C, Chalumeau M, Lebon P, Kaplon J, de Rougemont A, Pothier P, Gendrel D. Épidémies parisiennes de gastro-entérites à norovirus. *Arch Pediatr*. 2010 ;17 : 1522-26.

#### 1.2. Publications internationales

##### 2006

13. Agnello D, Hervé C, Lavaux A, Darniot M, Guillon P, Charpilienne A, Pothier P. Intrarectal immunization with rotavirus 2/6-viral-like particles induces an anti-rotavirus immune response localized in the intestinal mucosa, and protects against rotavirus infection in mice. *J Virol* 2006; 80 : 3823-32.

14. Le Guyader FS, Bon F, DeMedici D, Parnaudeau S, Bertone A, Crudeli S, Doyle A, Zidane M, Suffredini E, Kohli E, Maddalo F, Monini M, Gallay A, Pommepeuy M, Pothier P., Ruggeri FM. Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption. *J Clin Microbiol.* 2006 ; 44 : 3878-82.
15. Kroneman A, Vennema H, Harris J, Reuter G, von Bonsdorff CH, Hedlund KO, Vainio K, Jackson V, Pothier P., Koch J, Schreier E, Bottiger BE, Koopmans M; Food-borne viruses in Europe network.. Increase in norovirus activity reported in Europe. *Euro Surveill.* 2006 ; 11 : E061214.1.

## 2007

16. Gray JJ, Kohli E, Ruggeri FM, Vennema H, Sánchez-Fauquier A, Schreier E, Gallimore CI, Iturriza-Gomara M, Giraudon H, Pothier P, Di Bartolo I, Inglese N, de Bruin E, van der Veer B, Moreno S, Montero V, de Llano MC, Höhne M, Diedrich SM. European multicenter evaluation of commercial enzyme immunoassays for detecting norovirus antigen in fecal samples. *Clin Vaccine Immunol.* 2007 ; 14 : 1349-55.

## 2008

17. Kroneman A, Harris J, Vennema H, Duizer E, van Duynhoven Y, Gray J, Iturriza M, Böttiger B, Falkenhorst G, Johnsen C, von Bonsdorff CH, Maunula L, Kuusi M, Pothier P., Gallay A, Schreier E, Koch J, Szücs G, Reuter G, Krisztalovics K, Lynch M, McKeown P, Foley B, Coughlan S, Ruggeri FM, Di Bartolo I, Vainio K, Isakbaeva E, Poljsak-Prijatelj M, Grom AH, Bosch A, Buesa J, Fauquier AS, Hernández-Pezzi G, Hedlund KO, Koopmans M. Data quality of 5 years of central norovirus outbreak reporting in the European Network for food-borne viruses. *J Public Health (Oxf).* 2008 ; 30 : 82-90.
18. Ambert-Balay K, Lorrot M, Bon F, Giraudon H, Kaplon J, Wolfer M, Lebon P, Gendrel D, Pothier P. Prevalence and Genetic Diversity of Aichi Virus in Community and Hospitalized Patients. *J Clin Microbiol.* 2008 ; 46: 1252-8.
19. Sdiri-Loulizi K, Gharbi-Khélifi H, de Rougemont A, Chouchane S, Sakly N, Ambert-Balay K, Hassine M, Guédiche MN, Aouni M, Pothier P. Acute infantile gastroenteritis associated with human enteric viruses in Tunisia. *J Clin Microbiol.* 2008 ; 46: 1349-55.
20. Maslin J., Nicand E., Ambert-Balay K., Fouet C., Kaplon J., Haus R., Pothier P., Kohli E. Detection and characterization of human caliciviruses associated with sporadic acute diarrhea in adults in djibouti (Horn of Africa). *Am. J Trop. Med. Hyg.* 2008 ; 78 : 522-526.
21. Belliot G, Lavaux A, Souihel D, Agnello D, Pothier P. Use of Murine Norovirus as a surrogate of human norovirus to evaluate resistance to disinfectants. *Appl Environ Microbiol.* 2008 ; 74 : 3315-8.
22. Goyer M, Aho LS, Bour JB, Ambert-Balay K, Pothier P. Seroprevalence distribution of Aichi virus among a French population in 2006-2007. *Arch Virol.* 2008 ; 153 : 1171-4.
23. Kroneman A, Verhoef L, Harris J, Vennema H, Duizer E, van Duynhoven Y, Gray J, Iturriza M, Böttiger B, Falkenhorst G, Johnsen C, von Bonsdorff CH, Maunula L, Kuusi M, Pothier P, Gallay A, Schreier E, Höhne M, Koch J, Szücs G, Reuter G, Krisztalovics K, Lynch M, McKeown P, Foley B, Coughlan S, Ruggeri FM, Di Bartolo I, Vainio K, Isakbaeva E, Poljsak-Prijatelj M, Grom AH, Mijovski JZ, Bosch A, Buesa J, Fauquier AS, Hernández-Pezzi G, Hedlund KO, Koopmans M. Analysis of integrated virological and epidemiological reports of norovirus outbreaks collected within the foodborne viruses in Europe Network from 1 July 2001 to 30 June 2006. *J Clin Microbiol.* 2008, 46: 2959-65.
24. Le Guyader FS, Le Saux JC, Ambert-Balay K, Krol J, Serais O, Parnaudeau S, Giraudon H, Delmas G, Pommepeuy M, Pothier P, Atmar RL. A French oyster-related gastroenteritis outbreak: Aichi virus, norovirus, astrovirus, enterovirus and rotavirus all involved in clinical cases. *J Clin Microbiol.* 2008 ; 46 : 4011-7.
25. Verhoef L, Duizer E, Vennema H, Siebenga J, Swaan C, Isken L, Koopmans M, Balay K, Pothier P, McKeown P, van Dijk G, Capdepon P, Delmas G. Import of norovirus infections in the Netherlands and Ireland following pilgrimages to Lourdes, 2008 – preliminary report. *Eurosurveillance*, Volume 13, Issue 44, 30 October 2008, 17-18.
26. Pourasgari F, Ahmadian S, Hassan ZM, Mahdavi M, Salmanian M N AH, Pothier P. Intranasal immunization of mice with vp2 DNA of human rotavirus a induces cellular and humoral immunity. *Acta Virol.* 2008 ; 52(4):225-9.

## 2009

27. de Rougemont A, Kaplon J, Lebon P, Huet F, Denis F, Alain S, Fourcade L, Grosjean J, El-Hajje MJ, Gendrel D, Pothier P. Unexpected substitution of dominant rotavirus G genotypes in French hospitalized children over five consecutive seasons. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009;28:403-7.
28. Sdiri-Loulizi K, Ambert-Balay K, Gharbi-Khelifi H, Sakly N, Hassine M, Chouchane S, Guediche MN, Pothier P, Aouni M. Molecular Epidemiology of Norovirus Gastroenteritis among Children in Tunisia during 4-years: Detection of the Norovirus Variant GGII-4 Hunter as early as January 2003. *J Clin Microbiol.* 2009 Feb;47(2):421-9
29. Verhoef LP, Kroneman A, van Duynhoven Y, Boshuizen H, van Pelt W, Koopmans M; Foodborne Viruses in Europe Network. Selection tool for foodborne norovirus outbreaks. *Emerg Infect Dis.* 2009 Jan; 15 (1):31-8. (participation à un réseau européen/ European network participation)
30. Kamel AH, Ali MA, El-Nady HG, de Rougemont A, Pothier P, Belliot G. Predominance and Circulation of Enteric Viruses in Grand Cairo. *J Clin Microbiol.* 2009; 47: 1037-45.
31. Iturriza-Gómara M, Dallman T, Bányai K, Böttiger B, Buesa J, Diedrich S, Fiore L, Johansen K, Korsun N, Kroneman A, Lappalainen M, László B, Maunula L, Mathijnsens J, Midgley S, Mladenova Z, Poljsak-Prijatelj M, Pothier P, Ruggeri FM, Sanchez-Fauquier A, Schreier E, Steyer A, Sidaraviciute I, Tran AN, Usonis V, Van Ranst M, de Rougemont A, and Gray J. Rotavirus Surveillance in Europe 2005-2008: Web-Enabled Reporting and Real-Time Analysis of Genotyping and Epidemiological Data. *Journal of Infectious Diseases.* 2009 ; 200 Suppl 1:S215-21.
32. Aupiais C, de Rougemont A, Menager C, Vallet C, Brasme JF, Kaplon J, Pothier P, Gendrel D. Severity of acute gastroenteritis in infants infected by G1 or G9 rotaviruses. *J Clin Virol.* 2009 ; 46 : 282-5.
33. Sdiri-Loulizi K, Gharbi-Khelifi H, de Rougemont A, Hassine M, Chouchane S, Sakly N, Pothier P, Guédiche MN, Aouni M, Ambert-Balay K. Molecular epidemiology of human astrovirus and adenovirus serotypes 40/41 strains related to acute diarrhea in Tunisian children. *J Med Virol.* 2009 ; 81 : 1895-902.
34. Sdiri-Loulizi K, Hassine M, Gharbi-Khelifi H, Sakly N, Chouchane S, Guediche MN, Pothier P, Aouni M, Ambert-Balay K. Detection and genomic characterization of Aichi viruses in stool samples from children in Monastir, Tunisia. *J Clin Microbiol.* 2009 ; 47 : 2275-8.

## 2010

35. Kamel AH, Ali MA, El-Nady HG, Aho S, Pothier P, Belliot G. Evidence of the co-circulation of enteric viruses in sewage and in the population of Greater Cairo. *J Appl Microbiol.* 2010 ; 108 : 1620–1629.
36. Belliot G, Kamel AH, Estienney M, Ambert-Balay K, Pothier P. Evidence of the Emergence of New GGII.4 Norovirus Variants from Gastroenteritis Outbreak Survey in France during the 2007-08 and 2008-09 Winter Seasons. *J Clin Microbiol.* 2010 ; 48 : 994-998.
37. Le Guyader FS, Krol J, Ambert-Balay K, Ruvoen-Clouet N, Desaubliaux B, Parnaudeau S, Le Saux JC, Ponge A, Pothier P, Atmar RL, Le Pendu J. Comprehensive analysis of a norovirus-associated gastroenteritis outbreak, from the environment to the consumer. *J Clin Microbiol* 2010 ; 48 : 915-920.
38. Sdiri-Loulizi K, Hassine M, Bour JB, Ambert-Balay K, Mastouri M, Aho LS, Gharbi-Khelifi H, Aouni Z, Sakly N, Chouchane S, Neji-Guédiche M, Pothier P, Aouni M. Aichi virus IgG seroprevalence in Tunisia parallels genomic detection and clinical presentation in children with gastroenteritis. *Clin Vaccine Immunol.* 2010 ; 17: 1111-6.
39. Sdiri-Loulizi K, Hassine M, Aouni Z, Gharbi-Khelifi H, Sakly N, Chouchane S, Guédiche MN, Pothier P, Aouni M, Ambert-Balay K. First molecular detection of Aichi virus in sewage and shellfish samples in the Monastir region of Tunisia. *Arch Virol.* 2010 ;155 : 1509-13.
40. Sdiri-Loulizi K, Hassine M, Aouni Z, Gharbi-Khelifi H, Chouchane S, Sakly N, Neji-Guédiche M, Pothier P, Aouni M, Ambert-Balay K. Detection and molecular characterization of enteric viruses in environmental samples in Monastir, Tunisia between January 2003 and April 2007. *J Appl Microbiol.* 2010 ; 109 : 1093-104.
41. de Rougemont A, Kaplon J, Pillet S, Mory O, Gagneur A, Minoui-Tran A, Meritet JF, Mollat C, Lorrot M, Foulongne V, Gillet Y, Nguyen-Bourgain C, Alain S, Agius G, Lazrek M, Colimon R, Fontana C, Gendrel D, Pothier P; the French Rotavirus Network. Molecular and Clinical Characterization of Rotavirus From Diarrheal Infants Admitted to Pediatric Emergency Units in France. *Pediatr Infect Dis J.* 2011 ; 30 : 118-24.

42. Iturriza-Gómara M, Dallman T, Bányai K, Böttiger B, Buesa J, Diedrich S, Fiore L, Johansen K, Koopmans M, Korsun N, Koukou D, Kroneman A, László B, Lappalainen M, Maunula L, Marques AM, Matthijnssens J, Midgley S, Mladenova Z, Nawaz S, Poljsak-Prijatelj M, Pothier P, Ruggeri FM, Sanchez-Fauquier A, Steyer A, Sidaraviciute-Ivaskeviciene I, Syriopoulou V, Tran AN, Usonis V, Van Ranst M, de Rougemont A, Gray J. Rotavirus genotypes co-circulating in Europe between 2006 and 2009 as determined by EuroRotaNet, a pan-European collaborative strain surveillance network. *Epidemiol Infect.* 2010 ; 16 : 1-15.
43. Van der Wielen M, Giaquinto C, Gothefors L, Huelse C, Huet F, Littmann M, Maxwell M, Talayero JM, Todd P, Vila MT, Cantarutti L, Van Damme P; REVEAL Study Group. Impact of community-acquired paediatric rotavirus gastroenteritis on family life: data from the REVEAL study. *BMC Fam Pract.* 2010 ; 11 : 22. (participation à un réseau européen/ participation in a European network)
44. Verhoef L, Vennema H, van Pelt W, Lees D, Boshuizen H, Henshilwood K, Koopmans M; Food-Borne Viruses in Europe Network. Use of norovirus genotype profiles to differentiate origins of foodborne outbreaks. *Emerg Infect Dis.* 2010 ; 16 : 617-24. (participation à un réseau européen/ European network participation)

## 2011

45. Lorrot M, Bon F, El Hajje MJ, Aho S, Wolfer M, Giraudon H, Kaplon J, Marc E, Raymond J, Lebon P, Pothier P, Gendrel D. Epidemiology and clinical features of gastroenteritis in hospitalised children: prospective survey during a 2-year period in a Parisian hospital, France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011 ; 30 : 361-368.
46. de Rougemont A, Ruvoen-Clouet N, Simon B, Estienney M, Elie-Caille C, Aho S, Pothier P, Le Pendu J, Boireau W, Belliot G. Qualitative and quantitative analysis of the binding of GII.4 norovirus variants onto human blood group antigens. *J Virol.* 2011 ; Feb 23.
47. Kaplon J, Guenau E, Asdrubal P, Pothier P, Ambert-Balay K. Possible novel *Nebovirus* genotype in cattle, France. *Emerging Infectious Diseases.* 2011 (*sous presse*).
48. Impact of Norovirus/Sapovirus-related diarrhea in renal transplant recipients hospitalized for diarrhea. Roos-Weil D, Ambert-Balay K, Lanternier F, Mamzer-Bruneel MF, Nochy D, Pothier P, Avettand-Fenoel V, Anglicheau D, Snanoudj R, Bererhi L, Thervet E, Lecuit M, Legendre C, Lortholary O, Zuber J. *Transplantation* 2011 (*Sous presse*).
49. Sdiri-Loulizi K, Hassine M, Gharbi-Khelifi H, Aouni Z, Chouchane S, Sakly N, Neji-Guédiche M, Pothier P, Ambert-Balay K, Aouni M. Molecular detection of genogroup I sapovirus in Tunisian children suffering from acute gastroenteritis. *Virus Genes.* 2011(*Sous presse*).

### 1.3. Communications nationales

#### 2007

1. Balay K, Bon F, Lorrot M, Giraudon H, Kaplon J, Wolfer M, Lebon P, Gendrel D, Pothier P. Prévalence et diversité génétique des virus Aichi. 9<sup>e</sup> Journées Francophones de Virologie. Paris, 26-27 avril 2007
2. Belliot G, Lavaux A, Souhiel D, Bour JB, Agnello D, Pothier P. Utilisation du norovirus murin pour l'évaluation des effets virucides de détergents et d'antiseptiques utilisés en routine à l'hôpital. 9<sup>e</sup> Journées Francophones de Virologie. Paris, 26-27 avril 2007
3. Pothier P, J. Kaplon, G. Billaud, B. Lina, S. Pinchinat, T. Derrough, E. Caulin, D. Floret. Diagnostic des infections à rotavirus : sensibilité et spécificité d'un test de détection rapide (VIKIA<sup>®</sup> - Biomérieux) et d'une méthode Elisa (DAKO<sup>®</sup>). RICAI 6-7 Dec 2007, Paris.
4. Belliot G, A. Lavaux, D. Souhiel, D. Agnello, P. Pothier. Utilisation du norovirus murin pour l'évaluation des effets virucides de détergents et d'antiseptiques utilisés en routine à l'hôpital. RICAI 6-7 Dec 2007, Paris.
5. Sdiri K, H. Gharbi-Khelifi, A. De Rougemont, S. Chouchane, N. Sakly, K. Ambert-Balay, M. Neji Guédiche, M. Aouni, P. Pothier. Etude épidémiologique et clinique des gastroentérites virales aiguës de l'enfant en Tunisie. RICAI 6-7 Dec 2007, Paris.
6. Ambert-Balay K, M. Lorrot, F. Bon, H. Giraudon, J. Kaplon, M. Wolfer, P. Lebon, D. Gendrel, P. Pothier. Prévalence et diversité génétique des virus Aichi. RICAI 6-7 Dec 2007, Paris.

## 2008

7. Kamel A, Pothier P, Ali M, Belliot G. Prédominance et circulation des virus entériques dans l'agglomération du Caire. Journées Francophones de Virologie, 27-28 mars 2008, Institut Pasteur, Paris.
8. Le Guyader FS, Balay K, Le Saux JC, Krol J, Serais O, Parnaudeau S, Giraudon H, Delmas G, Pommepuy M, Pothier P. Multiple contamination virale dans une épidémie liée à la consommation d'huître. 10<sup>e</sup> Journées Francophones de Virologie. Paris, 2008.
9. de Rougemont A, Kaplon J, Gendrel D, Lebon P, Lorrot M, Bingen E, Gagneur A, Tran A, Stephan JL, Pillet S, Rodière M, Foulongne V, Floret D, Oriot D, Martinot A, Alain S, Huet F, Pothier P. Surveillance de l'évolution des génotypes G de rotavirus chez l'enfant en France entre 2006 et 2008 : pérennisation des génotypes G1 et G9. RICAI Dec 2008, Paris.

## 2009

10. de Rougemont A, Kaplon J, Fontana C, Lebon P, Stephan JL, Pillet S, Pozzetto B, Gagneur A, Tran A, Lorrot M, Bingen E, Coste-Burel M, Floret D, Lina B, Rodière M, Foulongne V, Oriot D, Agius G, Colimon R, Hober D., Martinot A., Parez N., Garbag-Chenon A., Fourcade L., Alain S., Huet F., Gendrel D., Pothier P. Diversité génotypique des infections à rotavirus chez l'enfant de moins de 5 ans aux urgences pédiatriques en France, 29<sup>e</sup> RICAI, Paris, France. 4-5 décembre 2009.
11. Aupiais C., de Rougemont A., Ménager C., Vallet C., Brasme JF., Kaplon J., Pothier P, Gendrel D. Sévérité des gastroentérites aiguës chez les enfants infectés par rotavirus G1 ou G9, 29<sup>e</sup> RICAI, Paris, France. 4-5 décembre 2009
12. de Rougemont A, Kaplon J, Pothier P. Evolution des génotypes de rotavirus dans la population pédiatrique française. Colloque annuel de l'InVS, Paris, 28 mai 2009.

## 2010

13. de Rougemont A, Kaplon J, Pillet S, Mory O, Gagneur A, Minoui-Tran A, Meritet JF, Lebon P, Mollat C, Coste-Burel M, Lorrot M, Bingen E, Foulongne V, Rodière M, Gillet Y, Lina B, Nguyen-Bourgain C, Garbag-Chenon A., Alain S., Languépin J, Agius G, Oriot D, Dubos F, Lazrek M, Hober D, Colimon R, Aho S, Huet F, Gendrel D., Pothier P. Diversité génotypique des infections à rotavirus chez l'enfant de moins de 5 ans aux urgences pédiatriques en France.
14. de Rougemont A, Ruvoen-Clouet N, Simon B, Estienney M, Elie-Caille M, Aho S, Pothier P, Le Pendu J, Boireau W, Belliot G. Analyse qualitative et quantitative de l'interaction entre des variants successifs de norovirus GII.4 et les antigènes tissulaires de groupe sanguin humains A, B, H et Lewis. 30<sup>e</sup> RICAI, Paris, France. 2-3 décembre 2010.

### 1.4. Communications internationales

## 2006

15. Agnello D, Hervé C, Lavaux A, Darniot M, Guillon P, Charpillienne A, Pothier P. Intrarectal immunization with rotavirus 2/6-viral-like particles induces an anti-rotavirus immune response localized in the intestinal mucosa and protects against rotavirus infection in mice. 9<sup>th</sup> dsRNA virus symposium. Cap Town, South Africa, 21-26 October, 2006

## 2007

16. Pinchinat S, Kaplon J, Pothier P, Floret D, Lina B, Billaud G, Marcelon L, Derrough T. Predominance of rotavirus genotype G9 in day care centers in Lyon, France. 25th annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Porto (Portugal) May 2-4 2007.
17. Pothier P, Gendrel D, Alain S, Serrand C, Kaplon J, El-Hajje MJ, Grosjean J, Fourcade L, Caulin E, Huet F, Lebon P, Denis F. Changing pattern of rotavirus genotype in French hospitalized children: Emergence of G9 and finding of rare G8 and G12 strains. 25th annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Porto (Portugal) May 2-4 2007.
18. Pothier P, Gendrel D, Alain S, Serrand C, Kaplon J, El-Hajje MJ, Grosjean J, Fourcade L, Caulin E, Huet F, Lebon P, Denis F. Changing pattern of rotavirus genotype in French hospitalized children: Emergence of G9 and finding of rare G8 and G12 strains. 2nd European Rotavirus Biology Meeting. June 3-6, 2007. "Djurönäset, Stockholm, Sweden.
19. Agnello D, Hervé C, Lavaux A, Darniot M, Guillon P, Charpillienne A, Pothier P. Role of B and T lymphocytes in the protection against rotavirus infection after Intrarectal immunization with rotavirus 2/6-viral-like particles. 2nd European Rotavirus Biology Meeting. June 3-6, 2007. "Djurönäset, Stockholm, Sweden.

20. Belliot G, Lavaux A, Souhiel D, Bour JB, Agnello D, Pothier P. Use of Murine Norovirus as a Surrogate of Human Norovirus to Evaluate Resistance to Antiseptics. Third International Calicivirus Conference, November 10-13, 2007, Cancun, Mexico.

## 2008

21. De Rougemont A, Kaplon J, Gendrel D, Lebon P, Lorrot M, Bingen E, Gagneur A, Tran A, Stephan J.L, Pillet S, Rodiere M, Foulongne V, Floret D, Oriot D, Dubos F, Alain S, Huet F, Pothier P. Changing pattern of rotavirus G genotype in French children: high prevalence of G9 and increase of G2 strains. 26th annual meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Graz (Autriche) May 13-17 2008

## 2009

22. Agnello D, Lavaux A, Pothier P. Intrarectal immunization with rotavirus 2/6 virus-like particles induces antigen-specific immunoglobulin A (IgA) secreting cells that migrate towards the mucosae-associated epithelial chemokine (MEC)/CCL28 and recognize the mucosal addressin cell adhesion.  
22a→Tenth International Symposium on Double-Stranded RNA Viruses, June 19-26<sup>th</sup> 2009, Hamilton Island, Australie.  
22b→ European rotavirus biology meeting, September 13-16<sup>th</sup> 2009, Loch Lomond, Scotland.
23. de Rougemont A, Kaplon J, Fontana C, Lebon P, Stephan JL, Pillet S, Pozzetto B, Gagneur A, Tran A, Lorrot M, Bingen E, Coste-Burel M, Floret D, Lina B, Rodière M, Foulongne V, Oriot D, Agius G, Colimon R, Hober D, Martinot A, Perez N, Garbag-Chenon A, Fourcade L, Alain S, Huet F, Gendrel D, Pothier P. Rotavirus genotypes diversity in diarrhoeal children at the French paediatric emergency departments between 2006 and 2009.  
23a→27th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases. June 9-12<sup>th</sup>, Brussels, Belgium.  
23b→ European rotavirus biology meeting, September 13-16<sup>th</sup> 2009, Loch Lomond, Scotland.

## 2010

24. Roos-Weil D, Pothier P, Lanternier F, Mamzer-Bruneel M-F, Ambert-Balay K, Snanoudj R, Lecuit M, Thervet E, Legendre C, Lortholary O, Zuber J. Norovirus-related severe and chronic diarrhea in renal transplant adult recipients. 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienne, Austria, 10-13 april 2010.
25. B Simon, A de Rougemont, C Elie-Caille, P Pothier, G Belliot, W Boireau. On-chip screening of noroviruses using histo-blood group antigens surfaces. 11<sup>th</sup> World Congress on Biosensors, Glasgow (United Kingdom), May 2010.
26. de Rougemont A, Ruvoen-Clouet N, Simon B, Estienney M, Elie-Caille C, Aho S, Pothier P, Le Pendu J, Boireau W, Belliot G. Qualitative and quantitative analysis of the binding of the GII.4 norovirus variants onto human blood group antigens. Fourth International Conference on Caliciviruses, Santa Cruz, Chile, October 2010.
27. Kaplon J, Guenau E, Asdrubal P, Pothier P, Ambert-Balay K. Bovine caliciviruses in France? Detection of a potentially new genotype among neboviruses. Fourth International Conference on Caliciviruses, Santa Cruz, Chile, October 2010.

## 1.5. Conférences sur invitation

### 2006 - 2009

1. Les virus entériques émergents. Réalités et hypothèses. Université Libre de Bruxelles, Hôpital Erasme, **23 mai 2007, Bruxelles, Belgique**.
2. Viral gastroenteritis and rotavirus vaccination. The rational for a subunit vaccine. Institute of Biochemistry and Biophysics, University of Tehran. **8<sup>th</sup> November 2007, Téhéran, Iran**.
3. Emerging enteric viruses: facts and questions. Medical University of Tehran. **22<sup>d</sup> February 2008, Téhéran, Iran**.
4. Diarrhées dans les pays en voie de développement et l'eau. Journées scientifiques de l'infectiologie, Vendredi **2 octobre 2009, Marseille**.
5. Diversité et évolution des génotypes de rotavirus. Journées Parisiennes de pédiatrie, XXIII<sup>èmes</sup> Rencontres Francophones Nord-Sud. Vendredi **9 octobre 2009, Paris**.
6. Les virus à transmission hydriques. 5<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques de la STM, 30 octobre-1<sup>er</sup> **novembre 2009, Hammamet, Tunisie**.

## 2010

7. Rotavirus et vaccination, enthousiasme et prudence. XIème Congrès annuel de l'Association Casablancaise des Pédiatres Privés, 08-09-10 Janvier **2010, Casablanca, Maroc**.
8. Les virus des Gastro-entérites virales en France et en Europe. Séance thématique « Les virus des Gastro-entérites virales en France et en Europe » de l'**Académie de Médecine, 9 novembre 2010, Paris, France**.
9. Diversités des norovirus. Infectiologie et Pédiatrie Générale, Diarrhées virales, **Hôpital Necker, 15 mars 2011, Paris, France**.

## 2. CONTRATS DE RECHERCHE LIES AUX ACTIVITES DU CNR

1. *Conseil Régional : Contrat d'étude.*
2. *CMCU, Comité Mixte Franco-Tunisien pour la Coopération Universitaire « Suivi des virus entériques dans l'environnement : variabilité génétique, typage moléculaire-phylogénie des astrovirus, calicivirus et de l'hépatite A. Collaboration avec le Pr M. Aouni de l'Université de Tunis.*
3. *Contrats européens :*
  - 3.1. *Enteric Virus Emergence, New Tools (EVENT), 6<sup>e</sup> PCRD (FP6-2002-SSP-1) 2004-2008.*
  - 3.2. *Prevention of emerging (food-borne) enteric viral infections: diagnosis, viability testing, networking and epidemiology (DIVINE-NET). Public health programme SANCO, decision N° 1786/2002/EC. 2004-2007.*
  - 3.3. *EuroRotaNet: Contrat Health Protection Agency : épidémiologie des rotavirus en Europe.*
4. *Contrat ANR-PRNA : ADHERESIST, 2007. Contamination of food products by enteric viruses (HAV, norovirus, enterovirus): connection between surface properties, adhesion ability and resistance induced to technological and hygienic treatments.*
5. *Contrat ANR-PRNA : SPICECLEAN, 2008. Evaluation de l'efficacité microbicide et du bénéfice organoleptique de traitements athermiques innovants de décontamination appliqués à des épices et des herbes aromatiques séchées. Porteur du projet : P Gervais, GPMA Université de Bourgogne*
6. *Partenariat Hubert Curien, programme Gundishapur Franco-Iranien : 2007-2011.*
7. *Partenariat Hubert Curien, programme Imhotep Franco-Egyptien: 2007-2009.*
8. *Bourse d'étude du gouvernement Egyptien pour KAMEL Aziza (4 années 2005-2009)).*
9. *Contrat d'étude Sanofi-Pasteur-MSD : épidémiologie des rotavirus en France (2006-2011).*

## 3. COLLABORATIONS

- Collaborations institutionnelles

1. *IFREMER- DEL/MP/Microbiologie (Dr Pommepuy et Le Guyader).*
2. *CNR des hépatites A et E (Prs Elisabeth Dussaix et Anne-Marie Roque Afonso).*
3. *CNR des entérovirus (Pr Bruno Lina).*
4. *Unité de virologie des aliments et de l'eau, ANSES, 22, rue Pierre Curie 94704 Maisons-Alfort (Dr Sylvie Perelle).*
5. *Dans le cadre du contrat ANR ADHERESIST :*
  - ANSES, 94704 Maisons-Alfort (Dr Sylvie Perelle).*
  - ADRIA Normandie (Dr T. Morin).*
  - LCPME UMR 7564, Nancy (Pr Ch. Gantzer).*
  - Microbiology Safety Unit-Institut Pasteur Lille (Dr N. Deboosere) :*
  - Research Center Nestlé, Lausanne (Dr Sanchez-Morgas).*
  - Anjou Research-Veolia Environnement (Dr Menard-Szczebara).*
6. *Dans le cadre du contrat ANR SPICECLEAN :*
  - Laboratoire de Génie des Procédés Microbiologiques et Alimentaires, Université de Bourgogne (Pr P. Gervais)*

ADRIA Normandie (Dr T. Morin).

Laboratoire de Microbiologie du Froid, Université de Rouen (Dr N. Orange)

CRITT AGRO HALL, Evreux (Dr F. Tonon).

CRITT 2ABI AGRO ALIMENTAIRE ET BIO INDUSTRIEL, Dijon (Dr JM Delaitre)

7. Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris (Pr D. Gendrel).
8. Services de pédiatrie et de virologie des CHU de Brest, Caen, Charleville-Mézières, Lille, Limoges, Lyon, Montpellier, Nantes, Poitiers, Saint-Etienne, des hôpitaux de l'AP-HP Trousseau, Robert-Debré et Saint-Vincent-de-Paul.
9. Service de virologie, CHU de Limoges (Prs F Denis et S Alain).
10. OPEN ROME, 67 rue du Poteau, 75018 Paris (Dr Jean-Marie Cohen).
11. CHR d'Orléans (Dr T. Prazuk) et réseau sentinelle Région Centre (Dr T. Blanchon)
12. InVS (Drs Henriette de Valk, Gilles Delmas, Véronique Vaillant et Anne Gallay).
13. INSERM UMR S707 et réseau Sentinelle.
14. INSERM U 601 (Dr J. Le Pendu).
15. Laboratoire Départemental De la Côte d'Or, Dijon (Dr E. Guenau).
16. Laboratoire des Maladies Transmissibles, Université de Tunis, Tunisie (Pr M Aouni).
17. National Research Centre Virology Laboratory. Dokki, Giza, Egypt (Dr M.A.A Ali).
18. Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V et Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat (Dr Doblali T).
19. Association « Epicentre », Paris, France (Drs E Baron et AL Page) et laboratoire CERMES, Niamey, Niger (Dr JM Collard).
20. Université de Ouagadougou, Burkina Faso (Pr A. Traoré)
21. Biotechnology Department, RAZI Vaccine and Serum Research Institute, Iran (Dr Mirjalili A)
22. Réseaux européens: **Pays Bas**: National Institut for Public Health, Bilthoven (Dr M. Koopmans), **Finlande**: Helsinki University Central Hospital (Dr von Bonsdorff KH), **Danemark**: Virus Diagnostics Laboratory, Copenhague (Dr Böttiger), **Suède**: Karolinska Institutue, Slona (Dr Swensson 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) and Universitat de Barcelona (Dr Bosch A), **Italie**: Istituto Superiore di Sanità, Rome (Dr Ruggeri FM), **Slovénie**: University of Ljubljana (Dr. Mateja Poljsak-prijatelj), **Hungary**: State Public Health Service (Prof. György Szücs).

- Collaborations industrielles

1. Argène-Biosoft, 09120 Varilhes, France.
2. BioMérieux, 69280 Marcy l'Etoile.
3. Covalab, 69000 Lyon.
4. Merial, 69000 Lyon.
5. Sanofi -Pasteur-MSD, 69348 Lyon Cedex 07, France.

## F. DEMARCHE QUALITE DU LABORATOIRE

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

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

- **Contrôle de qualité interne :**

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

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

- **Contrôle de qualité externe européen :**

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

- **Centre de Ressources Biologiques**

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

- **Accréditation**

Enfin, toujours dans son approche de qualité, le CNR des virus entériques lui-même s'est engagé vers l'**accréditation partielle en novembre 2013**, au même titre que le laboratoire de virologie, selon la **norme ISO 15189** pour aboutir avant 2016 à l'accréditation totale.

## G. DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

### 1. TRANSMISSION DES DONNEES A L'INVS

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

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

#### 1.1. Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo

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

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

**Annonce d'une épidémie via la base Voozanoo :**

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

#### 1.2. Rendu des résultats à l'InVS

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

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

### 2. ANONYMISATION DES PRELEVEMENTS

**Enregistrement des prélèvements reçus au CNR**

- ◆ Repérer sur la coprothèque (classeur jaune, onglet : Externes) le ou les numéros et identifier chacun des échantillons face au numéro en fin de liste (commencer par **E...**) puis les enregistrer sur le **serveur du CHU**  
(S:\CNR Virus Entériques\Coprothèques\COPROTHÈQUE Externes).

**Classement des dossiers**

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

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

## H. PROGRAMME DE TRAVAIL QUINQUENNAL : PERIODE 20012-2016

### 1. EN TERMES D'EXPERTISE

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

Notre participation aux réseaux européens FBVE-Net et EuroRotaNet se poursuivra durant la période 2012 - 2016. Nous participons également dans le réseau mondial « NoroNet », cette participation sera poursuivie durant la période 2012 – 2016.

● **Les réseaux FBVE-Net et NoroNet** sont plus spécifiques des norovirus. Ces réseaux nous apporteront :

- une base de données incomparable sur la génétique des norovirus avec une plate-forme de partage de ces données ;
- un réseau internet pour les alertes rapides et l'information sur les nouveaux variants ;
- la possibilité d'une comparaison rétrospective des norovirus variants GII.4 ;
- une surveillance prospective de la situation GII.4 ;
- la mise en place d'une nomenclature normalisée pour les norovirus ;

● **Le réseau EuroRotaNet** est spécifique pour la surveillance des rotavirus en Europe. Ce réseau nous apportera :

- une expertise technique pour la caractérisation génétique des souches de rotavirus ;
- une information sur la circulation des différents génotypes de rotavirus dans les différents pays européens ;
- un accès aux **contrôles externes de qualité**

#### 1.2. Expertise diagnostique des virus entériques et standardisation des méthodes

● Pour les **rotavirus, norovirus, sapovirus et le virus Aichi**, le CNR des virus entériques de Dijon dispose d'une expertise reconnue pour le diagnostic de ces virus. Le CNR participe aux **réseaux européens dont une des missions est la standardisation des méthodes** de détection des virus entériques et particulièrement des norovirus. Toutes les méthodes utilisées au CNR des virus entériques sont validées et utilisées par les autres laboratoires des réseaux internationaux dont nous faisons partie.

- **Rotavirus, norovirus, sapovirus** : Les techniques de détection et caractérisation moléculaire découlent de nos travaux de recherche ou résultent d'une mise en commun de techniques ou de données provenant des partenaires européens des réseaux FBVE-Net et EuroRotaNet. La surveillance systématique, l'identification et la caractérisation des nouvelles souches nous permettent de participer aux discussions **adaptant les techniques aux nouvelles situations épidémiologiques**. Les techniques utilisées sont des RT-PCR classiques indispensables pour la caractérisation des génotypes et des techniques en temps réel plus adaptées à la détection voire à la différenciation des génogroupes. Cette dernière technique est aussi plus adaptée à une utilisation dans les laboratoires de virologie non spécialisés.

- **Le virus Aichi** est encore relativement mal connu, pourtant il représente un virus entérique retrouvé dans une majorité de gastroentérites liées à la consommation d'huîtres. Le CNR est un des laboratoires de référence mondial pour la caractérisation du virus Aichi. Nous avons

une expérience et une collection de souches – comprenant les génotypes A, B et C - qui nous a permis plusieurs travaux de recherche épidémiologique. Toutes nos techniques de caractérisation sont partagées avec l'IFREMER avec qui nous travaillons en étroite collaboration.

- **Les astrovirus et les adénovirus 40-41** sont deux autres virus entériques classiques détectés dans les selles diarrhéiques. Nous utilisons, pour leur détection dans les selles diarrhéiques, des réactifs évalués et également utilisés par nos partenaires du réseau FBVE-Net (diagnostic immunoenzymatique des astrovirus et adénovirus 40-41). Pour la caractérisation de ces virus, nous utilisons des méthodes de biologie moléculaire (RT-PCR ou PCR) publiées et adaptées par nous-mêmes aux conditions de notre laboratoire.

- Les **autres virus entériques** sont recherchés lors des cas de gastroentérites isolées (immunodéprimés notamment) ou lors de recto-colites ulcéro-hémorragiques, il s'agit des entérovirus, paréchovirus, coronavirus, bocavirus et cytomégalovirus. Les techniques utilisées sont des PCR ou RT-PCR publiées dans la littérature scientifique. Nous les avons adaptées aux conditions spécifiques des prélèvements de selles ainsi qu'aux conditions de notre laboratoire.

### **1.3. Mise à disposition des protocoles et techniques de diagnostic**

Les protocoles de diagnostic des virus entériques utilisés au CNR des virus entériques sont mis à la disposition des laboratoires souhaitant développer ces techniques *in situ*. Cette mise à disposition peut s'accompagner de la formation d'un technicien ou biologiste. Durant les années précédentes, cette pratique a été utilisée pour transférer les techniques dans les laboratoires étrangers ; nous sommes opérationnels pour l'appliquer aux laboratoires français qui en feraient la demande.

Comme par le passé, le CNR mettra également à disposition des laboratoires les réactifs nécessaires au contrôle externe des méthodes de diagnostic.

### **1.4. Evaluation des trousse diagnostiques des norovirus**

Durant les années précédentes nous avons évalué les différentes trousse de diagnostic des rotavirus et plus récemment des norovirus. Durant les années 2012 – 2016 le CNR des virus entériques aura à évaluer les nouvelles trousse de diagnostic par immunochromatographie.

### **1.5. Développement et diffusion des méthodes de diagnostic des norovirus**

Durant les années à venir, le diagnostic des norovirus se réalisera soit par des méthodes de biologie moléculaire soit par des méthodes immunoenzymatiques (EIA).

- **Les méthodes de biologie moléculaire :**

Les méthodes de biologie moléculaire sont plus adaptées aux laboratoires spécialisés en microbiologie. Mais ceux-ci ont de moins en moins de temps à consacrer à la mise au point de nouvelles techniques ; ils veulent également standardiser leur système de détection des virus de façon à rationaliser les équipements et le temps des techniciens. Pour répondre à ces demandes et assurer la plus large diffusion de ces techniques dans les laboratoires de virologie, nous avons conclu un contrat de collaboration avec un industriel du diagnostic virologique pour la **réalisation d'une méthode de PCR temps réel compatible avec celles utilisées pour d'autres virus**. Cette nouvelle méthode sera mise au point dans notre laboratoire et sera commercialisée par l'industriel. Ce projet devrait atteindre ses premiers

objectifs dans le courant de l'année 2012 et être disponible au plus tard pour l'hiver 2012-2013. Nous aurons ensuite à suivre ce réactif afin de l'adapter à l'évolution des norovirus.

- **Méthode d'analyse immunoenzymatique (EIA).**

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

Nous disposons d'une collection de pseudo particules virales de différents génotypes de norovirus que nous utilisons comme source d'antigène pour la réalisation d'anticorps monoclonaux. Ces anticorps monoclonaux sont les réactifs de base pour la mise au point d'une méthode immunoenzymatique.

Nous avons conclu un **contrat de collaboration avec un industriel du diagnostic microbiologique** pour l'élaboration d'un test immunoenzymatique performant et très simple d'utilisation, adapté aux laboratoires non spécialisés ou même à une utilisation « in situ ». Pour cela nous sommes déjà avancés dans un programme de fabrication d'anticorps monoclonaux répondant à la diversité des norovirus et dont la sélection qualitative est déterminée par nos objectifs de sensibilité. Ce réactif devrait être opérationnel pour 2012. Comme pour le précédent réactif, le CNR aura à suivre ce test afin de vérifier qu'il conserve ses performances vis-à-vis des nouvelles souches.

#### **1.6. Diarrhées chroniques chez les transplantés**

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

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

#### **1.7. Surveillance des gastroentérites à rotavirus**

La vaccination contre les rotavirus ne concerne actuellement qu'environ 8% de la population infantile. La prise en charge ou non de cette vaccination fait encore débat en France ; les autorités sanitaires auront encore besoin d'avis sur la circulation des souches de rotavirus pour prendre leurs décisions. Nous avons programmé la **poursuite de la surveillance épidémiologique des rotavirus en milieu pédiatrique en collaboration avec le réseau** que nous avons constitué et décrit précédemment (partie Bilan des activités au [chapitre 2.1.1. page 17](#)). Cette surveillance française est couplée à celle effectuée par le réseau européen EuroRotaNet qui lui aussi doit poursuivre ses investigations épidémiologiques dans les années du prochain contrat.

Nous surveillerons la circulation des génotypes « classiques » G1 à 4 et G9 et les variations de leur fréquence. Mais nous **surveillerons également les souches inhabituelles** qui

représentent un risque d'émergence pour le futur. Durant les années écoulées, nous avons montré la circulation dans la population infantile de souches d'origine bovine, notamment le génotype G8. Certaines, selon des critères génétiques, semblaient d'introduction récente chez l'homme alors que d'autres lignées semblaient d'introduction plus ancienne et mieux adaptées. Pour mieux surveiller et comprendre ces phénomènes, nous avons couplé à cette surveillance chez l'homme une surveillance chez les bovins. Pour cela, nous collaborons avec plusieurs laboratoires départementaux des services vétérinaires (Dijon / Côte d'Or ; Limoges / Haute-Vienne ; Niort / Deux-Sèvres et Rennes / Ile et Vilaine)

### **1.8. Surveillance des gastroentérites à calicivirus (principalement norovirus)**

La surveillance des souches de norovirus et l'étude de leur évolution est **un de nos objectifs prioritaire pour les années 2012 – 2016**. Pour atteindre cet objectif, nous comptons sur l'analyse des épidémies qui nous parviennent de l'ensemble du territoire grâce à nos collaborations avec les délégations territoriales des ARS et des CIRE. Le recrutement actuel nous permet d'avoir une vision représentative de la circulation des souches virales en France. Par ailleurs, notre participation aux réseaux internationaux nous donne une expertise dans la caractérisation de nouvelles souches de norovirus.

Enfin, nous avons développé des collaborations très étroites avec des laboratoires d'Afrique qui nous permettent la caractérisation de nouvelles souches ou variants qui présentent un risque potentiel d'émergence en Europe.

## **2. CONTRIBUTION A LA SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE**

### **2.1. Partenariat et collaborations (InVS, IFREMER, ANSES et CNR hépatites A et E):**

InVS, délégations territoriales des ARS, CIRE,

IFREMER (Dr S LE GUYADER),

ANSES (Dr S PERELLE et B GASSILLOUD),

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

Tout au long du précédent mandat (2006 – 2010) nous avons étendu notre recrutement sur l'ensemble du territoire métropolitain et en Outre-mer. Aujourd'hui, le CNR des virus entériques est parfaitement connu de l'ensemble des CIRE, délégations territoriales des ARS ou des autres administrations locales.

Nous collaborons étroitement avec nos partenaires IFREMER, ANSES et CNR hépatites A et E pour toutes les investigations de cas groupés de gastroentérites lorsqu'une origine alimentaire ou hydrique est suspectée. Un contact téléphonique ou internet est systématiquement établi pour alerte et information sur le déroulement des investigations. Lorsqu'un des laboratoires caractérise un virus, les partenaires sont informés et une comparaison génétique des souches virales est effectuée.

Outre cette collaboration dans les investigations de cas groupés de gastroentérites, nous sommes (ou avons été) partenaires dans plusieurs réseaux internationaux :

-Réseau FBVE pour l'IFREMER et le CNR des virus des hépatites A et E ;

-contrat ANR ADHERESIST pour ANSES (Dr Sylvie PERELLE)

### **2.2. Investigations des cas groupés de gastroentérites.**

#### **2.2.1. Procédures d'investigation**

Les procédures de traitement des prélèvements ont été développées dans la partie D. Bilan des activités au chapitre 3.3. page 44.

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

### **2.2.2. Logistique, transport des échantillons**

Aujourd'hui, les échantillons nous sont adressés soit par l'intermédiaire d'un laboratoire de proximité soit directement par l'établissement concerné par l'épidémie de gastroentérites. Lorsque le laboratoire se charge du transport il utilise le plus souvent ses propres procédures. Le CNR des virus entériques de Dijon rembourse les frais de transport soit à l'établissement soit au laboratoire de proximité.

Pour l'avenir, nous sommes en négociation avec deux transporteurs, « La Poste » et « TNT » pour mettre en place un **système de transport prépayé répondant à nos procédures élaborées dans le cadre de notre accréditation**.

### **2.2.3. Bilans hebdomadaires CNR virus entériques-InVS-Réseau sentinelle**

Les [bilans hebdomadaires](#) instaurés lors des précédentes années seront poursuivis.

## **3. CONTRIBUTION A L'ALERTE**

### **3.1. Procédures d'alerte de l'InVS**

L'InVS est informée d'une nouvelle épidémie selon une procédure formalisée détaillée dans la partie D [chapitre 3.2. page 43](#).

Cette procédure formalisée concerne également les épidémies d'origine alimentaire avérée qui nous parviendraient directement.

L'InVS est également informée lors des réunions téléphoniques hebdomadaires. Tous les événements inhabituels, ou les tendances épidémiques peuvent être abordées lors de ces réunions et transmises à l'InVS via nos contacts, Nathalie JOURDAN-DA SILVA ou Gilles DELMAS.

### **3.2. Alertes de l'InVS non programmées**

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

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

Les alertes européennes concernant les risques alimentaires sont diffusées par internet par le réseau FBVE-Net. L'InVS, ANSES et IFREMER sont informés de ces alertes en même temps et par les mêmes voies que le CNR des virus entériques. Le CNR des virus entériques contacte les partenaires concernés pour suivre au plus près les conséquences de l'événement sur le territoire.

## **4. ACTIVITE D'INFORMATION, FORMATION, CONSEIL**

### **4.1. Colloques et réunions scientifiques.**

Nous participons régulièrement aux diverses réunions scientifiques organisées par les cliniciens, pédiatres et hygiénistes. Ce moyen de communication nous apparaît efficace pour faire connaître notre activité et la problématique des gastroentérites en milieu pédiatrique ou gériatrique. Ces réunions permettent également de faire le point avec les cliniciens sur nos enquêtes épidémiologiques communes ou établir de nouvelles collaborations.

#### **4.2. Site web**

Le site web nous permet une présentation du CNR et de ses missions. Sont également présentées, les caractéristiques des virus entériques responsables des gastroentérites et recherchés au CNR. Il détaille les conditions de prélèvement des selles, de leur conservation et de leur acheminement au CNR, les virus recherchés au CNR.

Lien web :

<http://www.chu-dijon.fr/page.php?url=directory/centre-national-de-reference-des-virus-enteriques%20>

*Accessible à l'aide des moteurs de recherche – Google et autres - avec les mots clés  
« CNR des virus entériques »*

#### **4.3. Activité de conseil**

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

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

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

#### **4.4. Activité de formation**

L'activité de formation se fera essentiellement par l'accueil et l'encadrement de stagiaires.

Une formation par séminaire, enseignement post-universitaire, publications didactiques est également envisagée.

## I. ANNEXE : PUBLICATIONS 2010

1. J Appl Microbiol. 2010 ; 108 : 1620–1629.
2. J Clin Microbiol. 2010 ; 48 : 994-998.
3. J Clin Microbiol 2010 ; 48 : 915-920.
4. Clin Vaccine Immunol. 2010 ; 17: 1111-6.
5. Arch Virol. 2010 ;155 : 1509-13.
6. J Appl Microbiol. 2010 ; 109 : 1093-104.
7. Pediatr Infect Dis J. 2011 ; 30 : 118-24.
8. Epidemiol Infect. 2010 ; 16 : 1-15.
9. BMC Fam Pract. 2010 ; 11 : 22.
10. Emerg Infect Dis. 2010 ; 16 : 617-24.
11. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011 ; 30 : 361-368.
12. J Virol. 2011 ; 85 : 4057-70.
13. Transplantation 2011 (*Sous presse*).
14. Virus Genes. 2011. 2011 (*sous presse*).
15. *BEH*, 2010 : 37 ; 385-389.
16. *BEH*, 2010 : 31-32; 349-352.
17. Arch Pediatr. 2010 ;17 : 1522-26.
18. Emerging Infectious Diseases. 2011 (*sous presse*).