



RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITÉ 2025

Année d'exercice 2024

CNR Virus des gastro-entérites

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
—	—	—

Table des matières

Résumé analytique	4
Executive summary	4
1. Missions et organisation du CNR	5
Organigramme	5
Démarche Qualité	5
2. Activités d'expertise	6
2.1 Évolution des techniques	6
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	6
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	6
2.4 Collections de matériel biologique	6
2.5 Activités d'expertises	7
2.5.1 Investigations virologiques des épidémies de cas groupés	7
2.5.1.1 Données épidémiologiques	7
2.5.1.2 Principales souches virales caractérisées	8
2.5.1.3 Conclusions sur les virus entériques caractérisés	10
2.5.2 Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal	10
2.5.3 Investigations virologiques de cas sporadiques	10
2.5.3.1 Surveillance de patients immunodéprimés (Figure 1)	10
2.5.3.2 Diagnostic de cas sporadiques de diarrhées aiguës (Figure 2)	12
2.5.4 Délai de restitution des résultats	13
2.5.5 Recherche de SARS-CoV-2 dans les selles	13
2.6 Activités de séquençage	14
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	14
3. Activités de surveillance	15
3.1 Description du réseau de partenaires	15
3.1.1 Réseau de surveillance des cas groupés de gastro-entérites	15
3.1.1.1 Réseaux de surveillance	15
3.1.1.2 Provenance des échantillons (Figure 5)	16
3.1.2 Réseau de surveillance des gastro-entérites à rotavirus	17
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	17
3.2.1 Caractéristiques épidémiologiques des cas groupés	17
3.2.1.1 Aspect saisonnier des épidémies	17
3.2.1.2 Sites et modes de transmission	18
3.2.2 Caractéristiques virologiques des épidémies de gastro-entérites à rotavirus en France : bilan de la surveillance de la saison 2023-2024	21
3.2.2.1 Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus	21
3.2.2.2 Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P	22
3.2.2.3 Analyse de la répartition des génotypes G ou P	23
3.2.2.4 Variations temporelles des combinaisons de génotypes G/P	25
3.2.2.5 Conclusions	27
3.3 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	28
3.3.1 Réseaux internationaux <i>NoroNet</i> et <i>EuroRotaNet</i>	28
3.3.2 Relations avec les pays du Sud	28

4. Alertes	29
4.1 Contact hebdomadaire avec Santé publique France (SpF)	29
4.2 Procédures d'alerte de SpF et des autres partenaires	29
4.3 Description de l'infrastructure informatique	29
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	30
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	30
5.1.1 Site internet : www.cnr-ve.org	30
5.1.2 Activité de formation	30
5.1.3 Activité de conseil aux professionnels de santé	30
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	30
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	31
6.1 Activités de recherche	31
6.1.1 Travaux en cours d'étude	31
6.1.2 Travaux en cours de finalisation	33
6.1.3 Travaux publiés	37
6.2 Liste des publications et communications	39
6.2.1 Publications internationales	39
6.2.2 Communications internationales	40
6.2.3 Communications nationales	40
6.2.4 Conférences	40

Résumé analytique

Faits marquants

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

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

Dans ce contexte, le CNRvge a concentré ses actions autour des 3 principaux axes suivants (bilan 2024) :

– **activités d'expertise** où le CNRvge apporte son aide dans le diagnostic de cas parfois complexes, le suivi des patients fragiles et l'approche thérapeutique des cliniciens : investigations virologiques chez **236 patients immunodéprimés** (24,2% de positifs, dont 35 norovirus) ; expertises virologiques de **792 cas sporadiques** (44,4% de positifs, dont 183 norovirus, 62 rotavirus, 35 sapovirus et 65 adénovirus) ; bilan virologique de **864 échantillons pour qualification avant transplantation de microbiote fécal (TMF)** (14 positifs, 1,6% : 6 norovirus, 1 rotavirus, 1 sapovirus, 4 entérovirus et 2 SARS-CoV-2) ; et recherche du **SARS-CoV-2 dans 216 selles** (3,7% de positifs).

– **gastro-entérites infantiles à rotavirus** pour lesquelles le CNRvge réalise une surveillance génotypique et moléculaire continue afin d'apprécier l'impact de la vaccination sur l'évolution ou l'émergence des génotypes du rotavirus : **analyse de 519 prélèvements** dans lesquels sont retrouvés une **prépondérance de G3eP[8] (78,6%)** et **G3P[8] (9,6%)**, suivis des **G1P[8] (4,4%)**, **G9P[8] (1,0%)** et **G12P[8] (0,6%)**, et une très faible circulation des **G2P[4] (0,4%)**, mais détection inhabituelle de **G2P[8] (2,5%)**.

– **gastro-entérites épidémiques en EHPAD ou cas groupés de gastro-entérites** investigués en collaboration avec SpF, les CIRE, les ARS, les EHPAD et les LABM : investigations virologiques de **95 épidémies (282 prélèvements)**, survenues toute l'année avec un pic entre novembre et mars (71,6%), dont 85,3% sont positives à un virus (86 norovirus dont 47 **GII.17[P17]**, et 9 autres virus entériques) ; 73 (76,8%) épidémies en EHPAD ou dans des hôpitaux ; transmission le plus fréquemment de **personne-à-personne (43,2%)** mais un tiers des épidémies sont d'origine inconnue et près d'un quart d'origine alimentaire.

Executive summary

Highlights

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

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

In this context, the NRCgev has focused its actions around the following 3 main axes (2024 report):

– **expertise activities** where the NRCgev provides assistance in the diagnosis of sometimes complex cases, the follow-up of fragile patients and the therapeutic approach of clinicians: virological investigations in **236 immunocompromised** (24.2% positive, including 35 norovirus); virological expertise of **792 sporadic cases** (44.4% positives: 183 norovirus, 62 rotavirus, 35 sapovirus and 65 adenovirus); virological assessment of **864 samples before fecal microbiota transplantation (FMT)** (14 positives, 1,6%: 6 norovirus, 1 rotavirus, 1 sapovirus, 4 enterovirus, 2 SARS-CoV-2); and search for **SARS-CoV-2 in 216 stools** (3.7% positives).

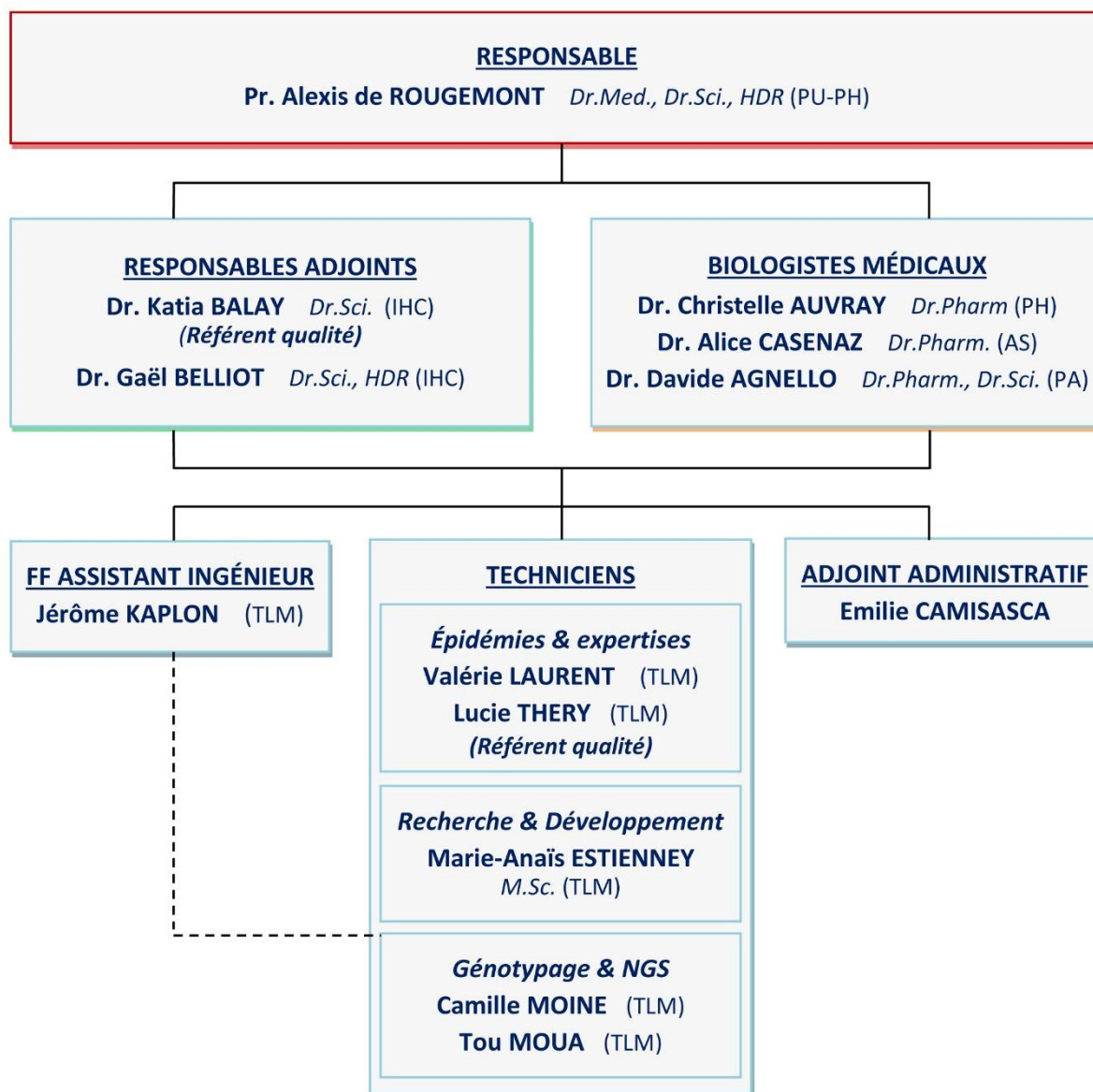
– **infantile rotavirus gastroenteritis** for which the NRCgev carry out continuous molecular and genotype-based monitoring in order to assess the impact of vaccination on the evolution or emergence of rotavirus genotypes: **analysis of 519 samples** in which a **preponderance of G3eP[8] (78.6%)** and **G3P[8] (9.6%)** is found, followed by **G1P[8] (4.4%)**, **G9P[8] (1.0%)** and **G12P[8] (0.6%)**, and very low circulation of **G2P[4] (0.4%)**, but unusual detection of **G2P[8] (2.5%)**.

– **gastroenteritis outbreaks in nursing home or clusters** investigated in collaboration with SpF, the Regional Intervention Cells (CIRE), the Regional Health Agency (ARS), nursing homes and private laboratories: virological investigations of **95 epidemics (282 samples)**, occurring throughout the year with a peak between November and March (71.6%), of which 85.3% are positive for a virus (86 noroviruses including 47 **GII.17[P17]**, and 9 other enteric viruses); 73 (76.82%) outbreaks in nursing homes or hospitals; most frequently **person-to-person** transmission (43.2%) but the origin is unknown in around a third of outbreaks and foodborne in almost a quarter of them.

1. Missions et organisation du CNR

Les missions et l'organisation du CNR des virus des gastro-entérites sont détaillées dans l'**annexe 1**. Elles ont été définies dans le cahier des charges spécifiques du CNR paru en 2022 pour la période 2023-2027. Aucune modification n'est intervenue à ce niveau en 2024.

Organigramme



Démarche Qualité

Le laboratoire de Biologie et Pathologie du CHU Dijon Bourgogne, dont fait partie le CNR des virus des gastro-entérites, est accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 V2012 (n°8-3125). Le CNR virus des gastro-entérites, à l'instar de la fédération de microbiologie, est accrédité COFRAC pour toute la filière de biologie moléculaire du pré- au post-PCR. La détection des norovirus dans les selles a été accréditée en octobre 2016. L'accréditation est toujours en attente d'extension depuis 2019 et de la visite du COFRAC en virologie moléculaire.

2. Activités d'expertise

Éléments clefs de l'activité d'expertise du CNRvge en 2024 :

- **délai moyen de rendu des résultats pour norovirus de 2,5 jours** et d'un dossier complet 3,0 jours (médiane de 2 jours)
- **expertises virologiques de 95 épidémies de cas groupés** : 86 souches de norovirus dont 84,9% de GII (54,7% de GII.17[P17] et 18,6% de GII.4) et 15,1% de GI.
- **investigations virologiques chez 236 patients immunodéprimés** : 24,2% de patients positifs et prépondérance des norovirus (35 souches).
- **expertises virologiques de 792 cas sporadiques** : 44,4% de patients positifs et prépondérance des norovirus (183 souches ; 88,0% de GII), rotavirus (62 souches), sapovirus (35 souches) et adénovirus (65 souches dont 58,5% AdV-F)
- **bilan virologique de 30 selles pour transplantation de microbiote fécal** et 834 selles dans un cadre contractuel ou de partenariat (14 positifs, 1,6%).
- **recherche du coronavirus SARS-CoV-2 dans les selles** (selon DPS de l'ANSM) : 216 selles investiguées dont 8 positives (3,7%).

2.1 Évolution des techniques

Le développement et la mise au point des techniques de RT-qPCR pour la détection des cosavirus et salivirus (*Picornaviridae*) et des bufarvirus/tusavirus (*Parvoviridae*) est toujours en cours, ainsi que le développement des techniques de séquençage haut-débit (NGS) pour la détection des virus entériques ARN dans les selles sur plate-forme Illumina.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Au cours de l'année 2024, nous avons procédé à l'évaluation d'une nouvelle trousse multiplex pour la détection de virus entériques dans les fèces humaines (aka « *panel GI* » : norovirus GI/GII, rotavirus A, adénovirus F40/F41, sapovirus GI/GII/GIV/GV et astrovirus) : le **kit BioSynex AMPLIQUICK® Fecal Virology**. Au total, plus de 425 échantillons de selles caractérisées ont été testés avec un panel large de génotypes représentatifs des souches circulantes.

Par ailleurs, le CNRvge a renouvelé sa campagne d'EEQ norovirus pour la certification COFRAC des procédés de détection dans les laboratoires de biologie médicale publics et privés en s'appuyant sur le CRB Ferdinand-Cabanne du CHU Dijon Bourgogne. Environ une quarantaine d'établissements ont adhéré au programme.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

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

Néanmoins, la demande la plus fréquente des laboratoires français, comme étrangers, est la **fourniture de témoins positifs**. Nous disposons à cet effet d'un stock d'échantillons de fèces dont le virus est parfaitement caractérisé. Cette fourniture se formalise par la mise en place d'EEQ norovirus et rotavirus pour la certification COFRAC des procédés de détection dans les laboratoires de biologie médicale publiques et privés sous la forme d'un abonnement (environ 40 laboratoires).

En 2024, une aide a été particulièrement apportée au laboratoire Bioressources et Sécurité Sanitaire des Aliments à la Faculté des Sciences et Techniques de Marrakech, Maroc, afin de monter les techniques de détection dans les eaux et les aliments des virus entériques (rotavirus, norovirus, adénovirus, Virus Aichi) et des virus des hépatites A et E. Les techniques et des témoins positifs ont été fournis à cet effet.

2.4 Collections de matériel biologique

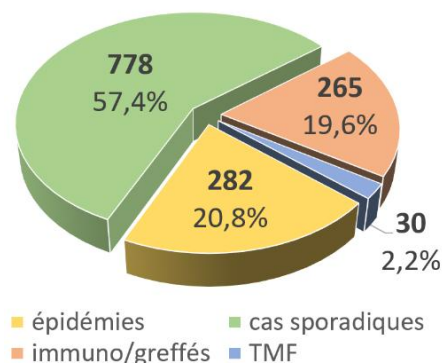
Nos collections de selles sont référencées au Centre de Ressources Biologiques (CRB) Ferdinand-Cabanne du CHU de Dijon dans la section « microbiologie » en 4 collections distinctes : « rotavirus », « norovirus », « autres virus » et « selles négatives ». Une filière spécifique a été mise en place pour le traitement et l'archivage des selles au CRB avec l'acquisition d'un PSM dédié et une étiqueteuse spécifique. La filière est certifiée ISO 9001 et ISO 20387.

➔ **Centre de Ressources Biologiques (CRB) Ferdinand-Cabanne, CHU Dijon Bourgogne**
14, Rue Paul Gaffarel, BP 77908, 21079 DIJON Cedex

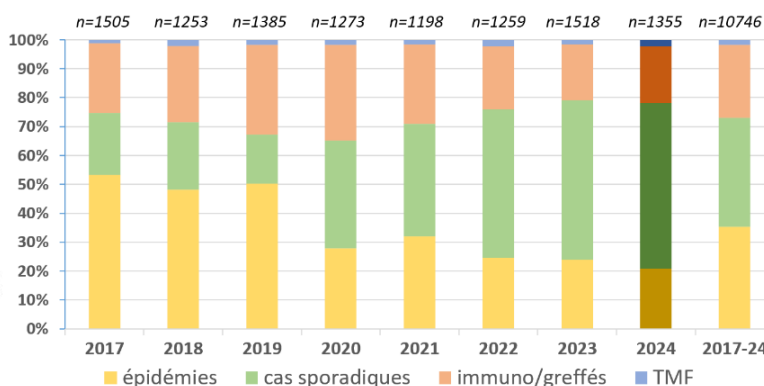
2.5 Activités d'expertises

Au total, **1355 échantillons** provenant d'épidémies groupées (20,8%), de patients immunodéprimés/greffés (19,6%), de cas sporadiques (57,4%) ou de qualification TMF (2,2%) ont été analysés par le CNR en 2024, auxquels peuvent être ajoutés **834 échantillons pour expertise virologique (TMF)** d'études cliniques.

Bilan d'activité 2024



Bilans d'activité de 2017 à 2024



2.5.1 Investigations virologiques des épidémies de cas groupés

2.5.1.1 Données épidémiologiques

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

En 2024, nous avons expertisé **95 épidémies dont 81 étaient positives** pour au moins un virus entérique soit **85,3%** (pour 95,1% d'entre elles, un norovirus était retrouvé seul ou associé à un autre virus) (Tableau 1). Si on analyse les **14 épidémies « négatives » (14,7%)**, on constate que pour 8 (57,1%) et 1 (7,1%) d'entre elles nous n'avons qu'un ou deux prélèvements, respectivement (soit dans plus de deux cas sur trois). Or, l'observation des données montre qu'en disposant de **3 à 4 prélèvements par épidémie nous pouvions prouver l'étiologie d'une épidémie quand elle est virale** (Tableau 2).

Entre 2012 et 2023, Nous avons expertisé 2.545 épidémies et détecté un virus pour 2.064 d'entre elles soit 81,1%. Nous avons retrouvé un norovirus seul ou associé à d'autres virus pour 90,5% (1.867) de ces épidémies positives.

Au total en 2024, 282 échantillons ont été analysés, soit une moyenne de $2,9 \pm 2,1$ échantillons et une médiane de 3 échantillons par épidémie :

- **81 épidémies « positives »** comprenant : **252 prélèvements analysés**, soit une moyenne de $3,1 \pm 2,1$ échantillons et une médiane de 3 échantillons analysés par épidémie, dont **213 positifs**, soit une moyenne de $2,6 \pm 2,0$ positifs et une médiane de 3 positifs par épidémie,
- **14 épidémies « négatives »** comprenant **30 prélèvements analysés**, soit une moyenne de $2,1 \pm 1,6$ échantillons et une médiane de 1 échantillon analysés / épidémie.
- **rapport (échantillons positifs / analysés)** : 75,5% des échantillons analysés contenaient au moins 1 virus, et 84,5% des échantillons issus des épidémies « positives » contenaient au moins 1 virus.

Pour **56 des 95 épidémies « positives »**, le nombre de prélèvements positifs correspondait exactement au nombre de prélèvements reçus au CNR. Cette proportion est globalement plus élevée que celles observées les années précédentes avec 58,9% d'adéquation contre 58,4% (2023), 62,3% (2022), 53,2% (2021), 52,4% (2020), 47,7% (2019), 49,0% (2018) et 50,3% (2017), et légèrement supérieure à la moyenne de l'ensemble de la période 2012-2023 (52,4%).

Tableau 1 : Tableau annuel comparatif des prélèvements analysés entre 2017 et 2024

épidémies			infections	virus								étiologie inconnue
				NoV	SaV	RVA	AdV	AstV	AiV	EV	autres	
Mandature 2017-22	2017	237	mono : 173 mixtes : 6	155 6	3 3	12 3	2 0	1 1	0 0	0 0	- -	58 (24,5%)
	2018	184	mono : 135 mixtes : 10	119 8	8 7	7 3	1 2	0 2	0 2	0 0	- -	39 (21,2%)
	2019	214	mono : 157 mixtes : 13	144 13	2 8	6 2	4 2	1 0	0 2	0 5	- -	44 (20,6%)
	2020	112	mono : 74 mixtes : 8	70 7	0 3	3 1	0 3	0 0	0 0	1 3	- -	30 (26,8%)
	2021	119	mono : 81 mixtes : 11	72 10	0 4	3 2	3 6	2 0	0 0	0 0	1* 2*	27 (22,7%)
	2022	99	mono : 68 mixtes : 9	61 8	0 2	2 3	2 3	2 2	0 1	0 0	1* 3*	22 (22,2%)
2023-27	2023	125	mono : 93 mixtes : 8	82 7	6 3	1 4	2 0	2 0	0 2	0 1	0 0	24 (19,2%)
	2024	95	mono : 76 mixtes : 10	73 4	0 2	2 1	1 3	0 0	0 0	0 0	0 0	14 (14,9%)

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

Tableau 2 : Distribution des épidémies selon le nombre de prélèvements analysés et le nombre de prélèvements positifs

2024		Nombre de prélèvements analysés									Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	16	
Nombre de prélèvements positifs	0	8	1	2	2		1				14
	1	18	3	1							22
	2		9	4	4						17
	3			20	9	2					31
	4				5						5
	5					1			2		3
	6						1				1
	7							1			1
	16									1	1
Total		26	13	27	20	3	2	1	2	1	95

2.5.1.2 Principales souches virales caractérisées

Les norovirus (Tableau 3)

- 86 souches de norovirus ont été caractérisées en 2024 dans 81 épidémies dont :
 - 13 souches de NoV GI, soit 15,1% ; **73 souches de NoV GII, soit 84,9%**,
 - de 2012 à 2023 : 1.927 souches caractérisées (1.781 épidémies) dont 15,3% de NoV GI et 84,7% de NoV GII. Cette différence GI/GII pourrait s'expliquer par le mode de transmission (hydrique, alimentaire ou de personne-à-personne).
- le **génotype GII.17 intensifie sa circulation avec 54,7% des NoV détectés soit 47 souches** (4,4% à 22,2% entre 2017 et 2023). Il s'agit du variant GII.17 Kawasaki-308 qui avait émergé en Europe en 2016.
- le **génotype GII.4 était en net retrait et représentait 18,6% des NoV avec 16 souches** dont :
 - 12 souches **GII.4 2012-Sydney[P16]**, NoV recombinant prédominant apparu en 2016,
 - 4 souches **GII.4 2016-Sydney[P16]**, NoV recombinant apparu en 2017,
- les autres génotypes (23 souches) dont quelques recombinants (3 souches) associés aux génotypes GII.1, GII.6 et GII.9 ont circulé sur la période avec des fréquences similaires.
- les **NoV GI ont été impliqués dans les épidémies avec une fréquence de 15,1% soit 13 souches dans 14 épidémies** représentant 3 génotypes différents dont la souche GI.5 est la plus fréquente.

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des souches de norovirus caractérisées de 2019 à 2024.

		2019			2020			2021			2022			2023			2024		
Norovirus		GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%	GI	GII	%
Génogroupe I (GI)	GI non typable	4		2,2%	1		1,1%	1		1,1%	1		1,4%	1		1,0%	2		
	GI.1	22		12,2%	7		7,8%	2		2,3%				1		1,0%			
	GI.2	3		1,7%	6		6,7%				1		1,4%	2		2,0%			
	GI.3	10		5,5%	2		2,2%	1		1,1%	1		1,4%	4		4,0%	1		1,2%
	GI.3P[13]	2		1,1%							1		1,4%						
	GI.4	2		1,1%	1		1,1%							2		2,0%			
	GI.5	2		1,1%										4		4,0%	9		10,5%
	GI.5[P4]													1		1,0%			
	GI.6	2		1,1%	2		2,2%	2		2,3%	1		1,4%	1		1,0%	1		1,2%
	GI.6P[11]				1		1,1%												
	GI.7	1		0,6%															
	GI.8																		
	GI.9							1		1,1%									
Génogroupe II (GII)	GII non typable		6	3,3%		6	6,7%		6	6,9%		2	2,8%		5	5,0%		1	1,2%
	GII.1																		
	GII.1[P30]											1	1,4%						
	GII.1[P33]																1	1,2%	
	GII.2		2	1,1%					1	1,1%					3	3,0%			
	GII.2[P16]		1	0,6%		1	1,1%		19	21,8%		2	2,8%						
	GII.3		2	1,1%					2	2,3%		2	2,8%		1	1,0%		1	1,2%
	GII.3[P8]														1	1,0%			
	GII.3[P12]								2	2,3%									
	GII.3[P16]		2	1,1%															
	GII.3[P30]		5	2,8%					1	1,1%		1	1,4%						
	GII.4 2006a-Yerseke																		
	GII.4 2006b-Den Haag		1	0,6%															
	GII.4 2009-NewOrleans		1	0,6%															
	GII.4 2012-Sydney [P4 2004-Hunter]					3	3,3%												
	GII.4 2012-Sydney [P4 2009-NewOrleans]		2	1,1%		7	7,8%												
	GII.4 2012-Sydney		5	2,8%		3	3,3%		7	8,0%		5	7,0%		6	5,9%			
	GII.4 2012-Sydney[P16]		67	37,0%		16	17,8%		25	28,7%		25	35,2%		35	34,7%		12	14,0%
	GII.4 2012-Sydney[P21]																		
	GII.4 2012-Sydney[P31]		6	3,3%		2	2,2%		8	9,2%		9	12,7%		1	1,0%			
	GII.4 2016-Sydney[P16]																4	4,7%	
	GII.5[P22]		1	0,6%															
	GII.6		4	2,2%		2	2,2%								2	2,0%		2	2,3%
	GII.6[P7]		11	6,1%		2	2,2%		1	1,1%		1	1,4%		5	5,0%		1	1,2%
	GII.7		2	1,1%					1	1,1%		1	1,4%					1	1,2%
	GII.7[P6]					2	2,2%												
	GII.8		4	2,2%		2	2,2%		1	1,1%					7	6,9%		1	1,2%
	GII.9[P7]																1	1,2%	
	GII.10		1	0,6%		1	1,1%												
	GII.12																		
	GII.12[P16]														1	1,0%			
	GII.13																		
	GII.13[P16]		1	0,6%		1	1,1%												
	GII.14											1	1,4%						
	GII.15																		
	GII.16											1	1,4%						
	GII.16[PNA7]											2	2,8%						
	GII.17		8	4,4%		20	22,2%		6	6,9%		10	14,1%		18	17,8%		47	54,7%
	GII.20		1	0,6%															
	GII.22																		
	GIV.1																		
total		48	133	181	20	68	88	7	80	87	5	66	71	16	85	101	13	73	86
%		26,5	73,5		22,7	77,3		8,0	92,0		7,0	93,0		15,8	84,2		15,1	84,9	

Les autres virus détectés en 2024 (9 souches) :

- **adénovirus : 4 souches ont été caractérisées dans 4 épidémies** dont 3 de l'espèce C et 1 de l'espèce F.
- **rotavirus : 3 souches ont été caractérisées dans 3 épidémies** dont 1 souche G2P[4] et 1 souche G3eP[8].
- **sapovirus : 2 souches ont été caractérisées dans 2 épidémies** non typable.

2.5.1.3 Conclusions sur les virus entériques caractérisés

Comme à chaque saison, les norovirus sont présents dans la majorité (81,1%) des épidémies de cas groupés de gastro-entérites et représentent la majorité (90,5%) des virus isolés des selles analysées. Il s'agit essentiellement de norovirus du génogroupe II (84,9% des norovirus détectés et 76,8% des virus détectés).

Jusqu'ici les variants du génotype GII.4 étaient prédominants et se succédaient selon un cycle de 2 à 3 années. Depuis 2017, les variants recombinants prédominaient, en particulier le GII.4 2012-Sydney[P16] qui a émergé en 2016 en France et qui représentait en moyenne 30,7% des souches de norovirus caractérisées. Cette saison, le génotype GII.17 Kawasaki-308, qui avait émergé au cours de l'hiver 2015-2016 avec presque 45% des souches de norovirus caractérisées, est devenu le génotype principal de norovirus responsable d'épidémies de cas groupés en 2024 avec 54,7%.

Au cours de l'année 2024, les norovirus GI ont été moins impliqués dans les épidémies avec une fréquence de 13,7% contre 15,8% en 2023, 7,0% en 2022, 8,0% en 2021, 22,2% en 2020, 29,4% en 2019 (la moyenne étant de 16,2% au cours des 10 dernières années).

Le nombre d'épidémies groupées investiguées reste modéré au cours de ces dernières saisons par rapport à la période pré-COVID.

2.5.2 Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal

En 2024, nous avons analysés 30 échantillons de selles de divers CHU (Brest, Clermont-Ferrand, Nantes et Paris Henri-Mondor et Saint-Antoine) dans le cadre de TMF à visée thérapeutique. Un don a été disqualifié dû à la présence d'un sapovirus.

Nous participons depuis 2014 à divers programmes de recherche sur les traitements à l'aide de la TMF, notamment avec l'APHP dont l'équipe du Pr. Harry SOKOL (études REBALANCE/MIRACLE sur les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)) et l'hôpital Bichat (étude FECES), le CHU de Clermont-Ferrand (étude TMF Allo) et BIOFORTIS (Mérieux NutriSciences) et via des accords-cadres. Dans ce cadre, **834 prélèvements de selles ont été analysés en 2024 pour qualification du don**, dont 13 échantillons (1,6%) ont été disqualifiés après détection de norovirus (6 échantillons), rotavirus (1 échantillon), d'entérovirus (4 échantillons) ou de SARS-CoV-2 (2 échantillons).

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

2.5.3 Investigations virologiques de cas sporadiques

2.5.3.1 Surveillance de patients immunodéprimés (Figure 1)

Nous avons reçu **265 selles représentant le suivi de 236 patients**. Nous n'avons reçu un seul prélèvement pour 207 patients, 2 prélèvements pour 25 patients et 3 pour 4 patients. Au total, **64 (24,2%) selles** chez 59 (25,0%) patients **étaient positives** pour 1 virus (61 patients) ou 2 virus (2 patients). Par ordre de fréquence : **39 norovirus (35 patients)**, 10 adénovirus (9 patients), 8 sapovirus (8 patients), 3 rotavirus (3 patients), 2 entérovirus (2 patients) et 2 astrovirus (2 patients). À noter 2 SARS-CoV-2 (2 patients) ont été détectés.

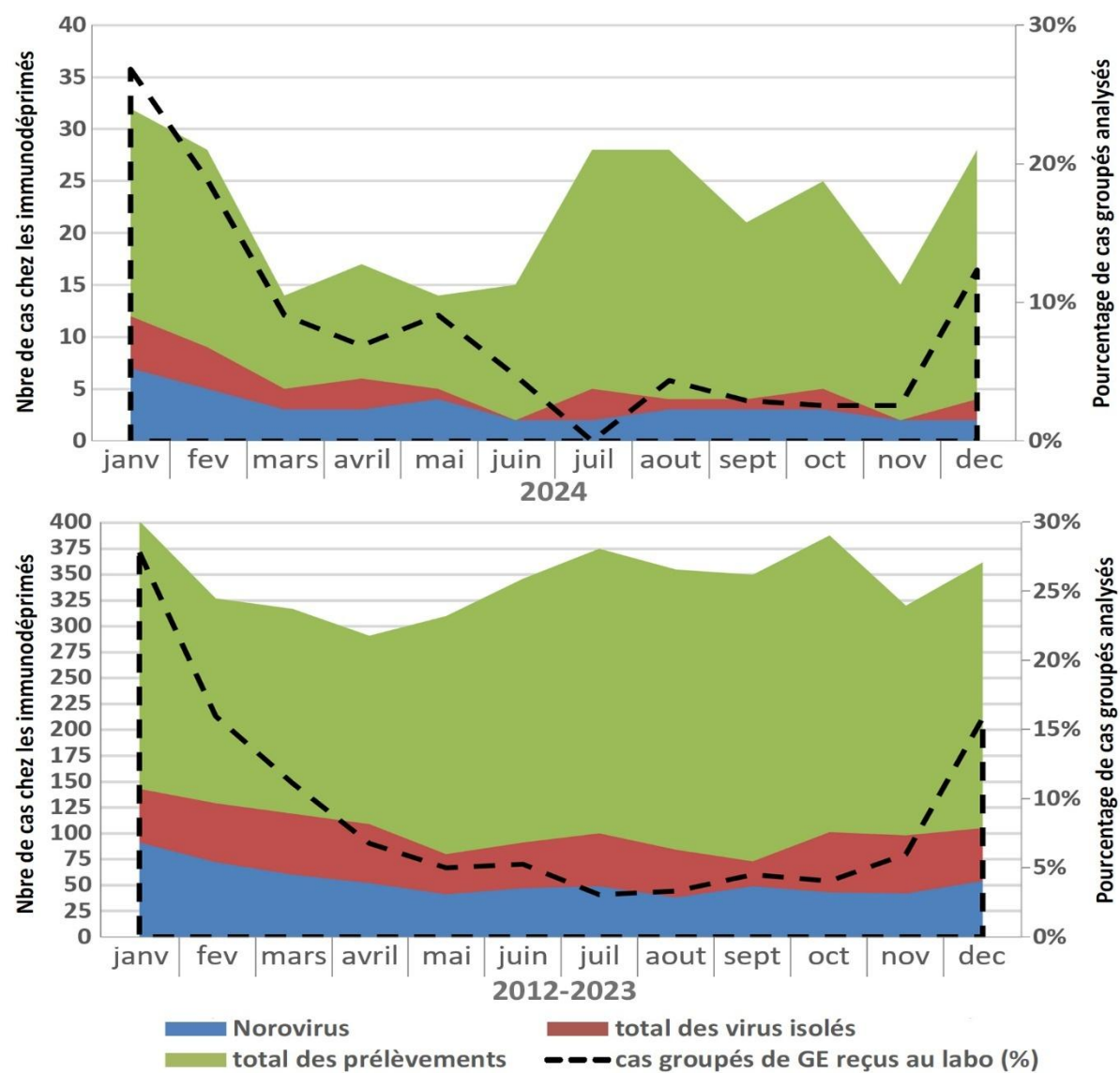
Les souches virales caractérisées chez ces sujets immunodéprimés correspondaient à 93 souches dont :

- **norovirus : 35 souches (Tableau 4)**
 - 5 souches de NoV-GI, soit 14,3% des norovirus détectés,
 - **30 souches de NoV-GII, soit 85,7% des norovirus détectés dont 17 de souches GII.17[P17].**
- **sapovirus : 8 souches** dont 1 souches GI.7, 2 souches GII.3 et 3 souches GIV.1.
- **rotavirus : 3 souches** G3eP[8].
- **adénovirus : 9 souches** dont 1 souche entérique F41 et 8 souches non entériques (types C et D, et E4).
- **entérovirus : 2 souches** de type E68/D1 et Rhino A43 (typage par le CNR entérovirus).
- **astrovirus : 2 souches** dont 1 souche type 1.
- **SARS-CoV-2 : 2 souches.**

Tableau 4. Détail des typages des 35 souches de norovirus détectés chez des immunodéprimés en 2024

	Souches de norovirus	nombre	Souches de norovirus	nombre
GI	GI non typables*	1	GI.6[P6]	1
	GI.5[P5]	2	GI.6[P11]	1
Génogroupe II	GII non typables*	1	GII.4 2009[P4 2009]	1
	GII.2[P16]	1	GII.4 2012[P4 2009]	1
	GII.2[P31]	1	GII.4 2016[P16]	2
	GII.3[P3]	1		
	GII.6[P6]	4	GII.17[P17]	17
	GII.13[P16]	1		

* charge virale trop faible



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

En 2024, nous avons analysés les selles de **792 patients (834 prélèvements)** souffrant de diarrhée aiguë et provenant de CHR, CHU ou LABM de toute la France. La moyenne d'âge était à 35,0 ans et la médiane à 19,5 ans [2 jours ; 101,3 ans]. En tout **352 (44,4%) patients étaient positifs** pour au moins 1 virus entérique dont 16 patients présentaient 2 virus dans les selles et 3 patients présentaient 3 virus.

En tout, **381 virus** ont été détectés dont par ordre décroissant de fréquence :

- **norovirus : 183 souches (Tableau 5)** : 31 souches de NoV-GI, **130 souches de NoV-GII**, soit 88,0% des norovirus typables, dont **60 GII.17[P17] (46,2%)** et **3 variants de souches GII.4 (37,7%)**, et 22 souches non génogroupables (Ct>36).
- **adénovirus : 65 souches** dont 38 souches entériques F40/F41, 9 souches C, 2 souche D, 1 souches A31 et 15 souches non typables (Ct>36).
- **rotavirus : 62 souches** dont **43 G3eP[8]**, 5 G1P[8], 2 G2P[8], 2 G3P[8], 1 G6P[8], 1 G-UDP[19] et 8 souches non typables (Ct>36).
- **sapovirus : 35 souches** dont 10 GI.1, 1 GIV.1 et 24 souches non typables (Ct>36).
- **entérovirus : 19 souches** dont 1 entérovirus (EV68/D1), 4 coxsackievirus (A6, A10, B3, B5), 2 echovirus (E18, E25), 6 rhinovirus (A49, A102, B84, C24, C37, C42), et 6 souches non typables (Ct>36).
- **astrovirus : 8 souches** dont 3 hAstV-1 et 5 souches non typables (Ct>36).
- **paréchévirus : 4 souches** dont 1 PEV-3 et 3 souches non typables (Ct>36).
- **coronavirus : 4 souches SARS-CoV-2.**

Tableau 5. Détail des typages des norovirus détectés dans les cas sporadiques en 2024 (* charge virale trop faible)

	Souches de norovirus	nombre	Souches de norovirus	nombre
GI	GI non typables*	4	GI.5[P4]	2
	GI.3[P3]	11	GI.5[P5]	16
	GI.4[P4]	2		
GII	GII non typables*	18	GII.6[P6]	6
	GII.1[P30]	1	GII.6[P7]	2
	GII.2[P2]	1	GII.7[P7]	1
	GII.3[P3]	5	GII.10[P16]	1
	GII.4 2009 [P16]	1	GII.13[P16]	1
	GII.4 2012 [P16]	36	GII.14[P16]	1
	GII.4 2016 [P16]	12	GII.17[P17]	60

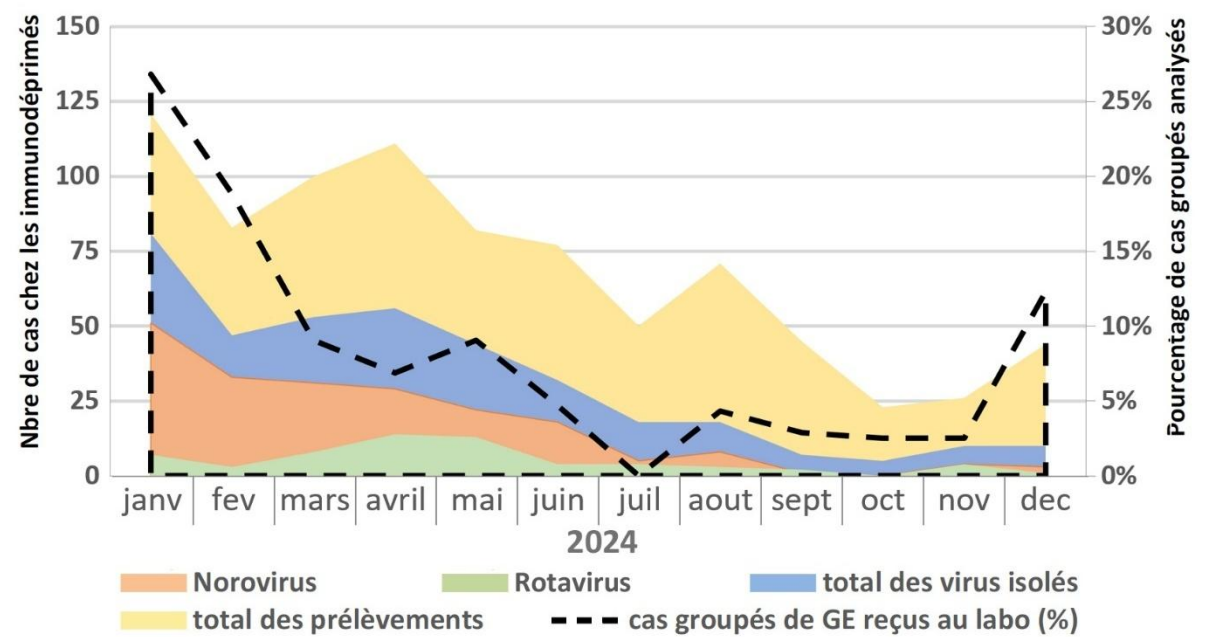


Figure 2 : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des 792 cas isolés analysées entre janvier et décembre 2024 (1 prélèvement/patient).

2.5.4 Délai de restitution des résultats

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

L'analyse « norovirus GI/GII » est majoritairement réalisée dans un délai inférieur à 7 jours avec un pic à 1 et 2 jours, et une moyenne de 2,4 jours contre 2,7 j (2023), 3,1 j (2022), 2,8 j (2021), 2,8 j (2020), 2,6 j (2019), 2,5 j (2018) et 2,3 j (2017), et avec une médiane de 2 jours (**Figure 3**).

Il est important de noter que les augmentations d'activité n'impactent que peu le délai de rendu des résultats pour la recherche de norovirus. Enfin, le délai de rendu d'un dossier complet (panel d'analyses allant jusqu'à 10 virus) au cours de l'année 2024 est de 3,0 jours avec une médiane à 2 jours.

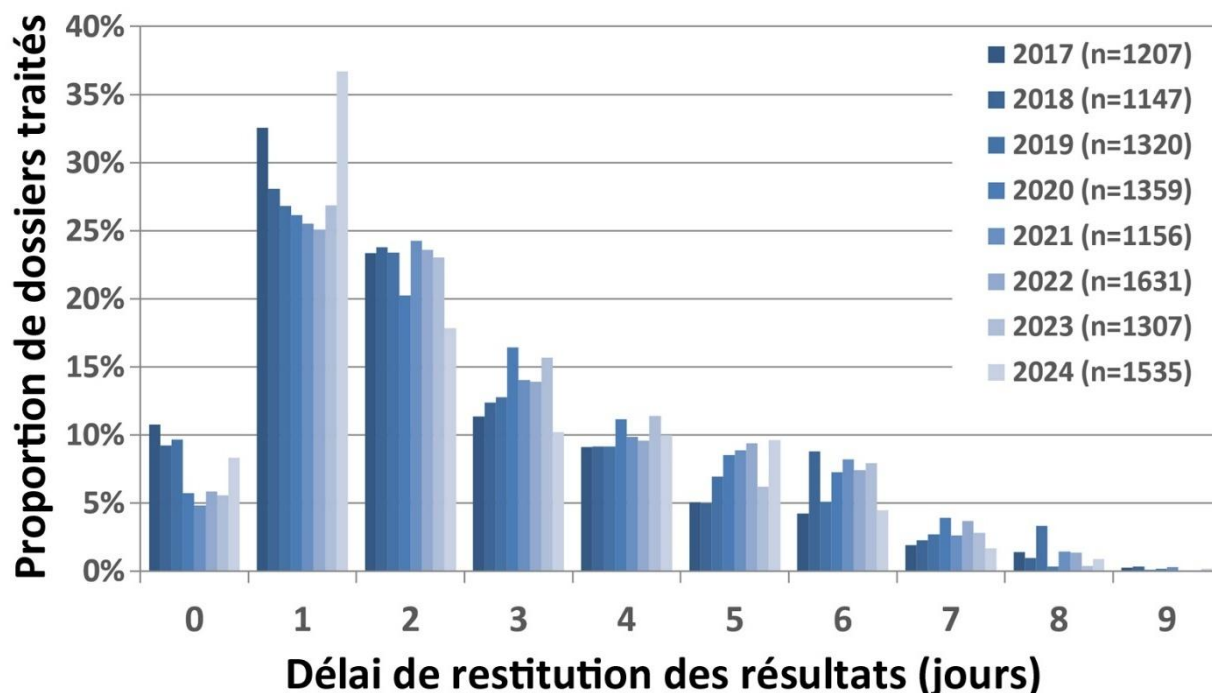


Figure 3 : Délai de restitution des résultats d'analyse de norovirus dans les selles de 2017 à 2024

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

2.5.5 Recherche de SARS-CoV-2 dans les selles

Fort de son expertise et son expérience dans la détection des virus dans les matrices fécales, le CNRvge a mis au point une technique de détection de coronavirus SARS-CoV-2 dans toutes les selles qui lui étaient adressées (*le statut virologique pour SARS-CoV-2 n'étant pas connu*). Un dossier de validation de méthode a été formalisée selon les recommandations de l'ANSM et le CNRvge participe à la détection de SARS-CoV-2 pour la qualification des selles de donneurs TMF dans les études thérapeutiques. Depuis janvier 2023, la recherche n'est plus faite systématiquement dans toutes les selles reçues au CNR.

Sur un total de **216 selles investiguées entre janvier et décembre 2024**, seules 8 (3,7%) selles étaient positives pour SARS-CoV-2 chez des patients dont la moyenne d'âge était de 42,2 ans [8 semaines ; 77,2 ans] (médiane = 40,8 ans ; 2 femmes pour 6 hommes) : 4 greffés (néphrologie), 2 hospitalisés (pédiatrie, médecine interne) et 2 externes (urgences). (**Figure 4**)

À noter : dans le cadre de la qualification virologique de 797 dons pour TMF, 2 échantillon était positif pour SARS-CoV-2.

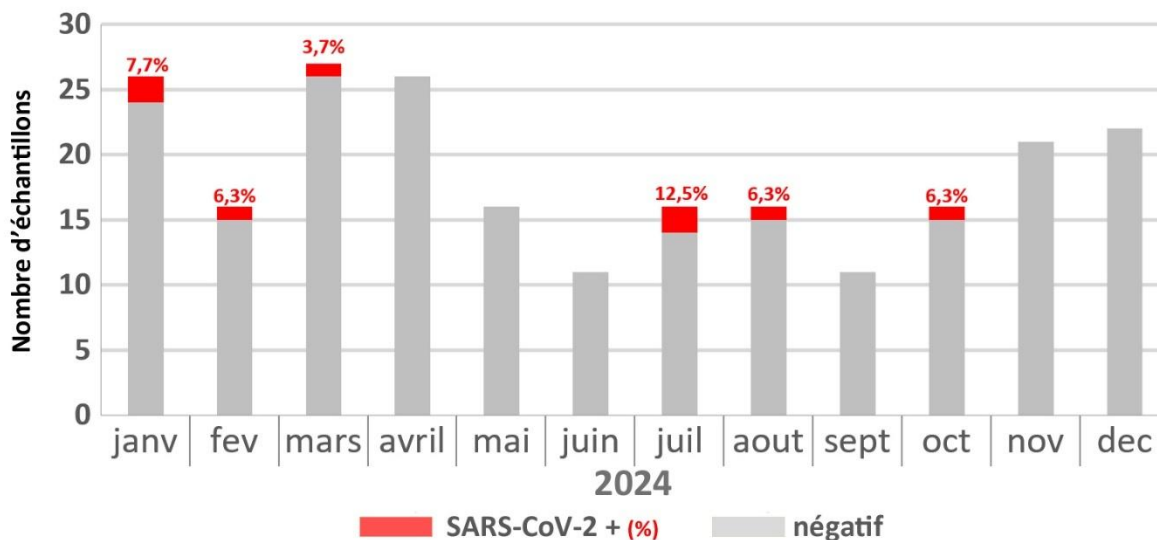


Figure 4 : Répartition saisonnière et statut des échantillons testés pour SARS-CoV-2 dans 216 selles entre janvier et décembre 2024 (1 prélèvement/patient).

2.6 Activités de séquençage

Séquençage Sanger

Le CNRvge a accès en routine à une plate-forme de séquençage Sanger pour le génotypage des souches de virus détectées dans les échantillons de selles qui lui sont confiés (norovirus, rotavirus, sapovirus, astrovirus, adénovirus et Aichi virus) ; *NB : les souches d'entérovirus et parechovirus détectées sont systématiquement adressées pour typage au CNR entérovirus*. Depuis 2023, la plate-forme s'est dotée d'un nouveau séquenceur ABI 3500xL Dx en remplacement de son ancien ABI 3130xL. Les préparations de séquençages, réactions et purifications, sont effectuées par l'équipe technique du CNRvge une ou deux fois par semaine. **Au total, 1.307 souches (42,0%) ont été typées par séquençage en 2024 pour un volume de 3.114 échantillons analysés.** Il s'agit cependant le plus souvent de typages par séquençage partiel de génomes.

Séquençage NGS

Le CNRvge a temporairement un accès limité à une plate-forme de séquençage haut-débit comportant actuellement deux séquenceurs Illumina® (MiSeq® et NextSeq® 550) hébergés sur la Plate-forme de Biologie Hospitalo-Universitaire (PBHU) du CHU Dijon Bourgogne. Début 2025, un séquenceur Illumina® NextSeq® 1000 sera réceptionné en 2025 pour l'usage du CNRvge, du LA-CNRcmap et de la Fédération de Microbiologie, et pour lequel une optimisation du pipeline sera nécessaire à des fins d'automatisation.

La mise en place des activités de séquençage NGS sur prélèvements de selles est une approche complexe qui est volontairement limitée à la détection des virus ARN majoritairement responsables des gastro-entérites chez l'homme. De nombreuses interférences existent avec notamment les ARN génomiques de l'hôte mais surtout les ARN ribosomaux du microbiote et du mycobiote intestinaux. Le CNR est actuellement en capacité d'effectuer des analyses de type NGS pour le séquençage du génome complet des norovirus et des rotavirus dans les selles mais elles seront prochainement disponibles pour des analyses selon plusieurs axes : détection pan-virale métagénomique, investigation des cas négatifs complexes (en particulier chez l'immunodéprimé), le séquençage complet de génome de souches d'intérêt autres que norovirus et rotavirus, l'identification de souches vaccinales de rotavirus (réalisable actuellement par technique Sanger).

L'assistant ingénieur du CNRvge a été formé à la bio-informatique pour le traitement des données et bénéficiera du support d'un ingénieur bio-informaticien à temps plein dédié au CNRvge et au LA-CNRcmap de Dijon. Le CNR a également acquis en 2024 pour analyser les données générées une station de travail Lenovo P8 très haute performance (AMD Ryzen™ Threadripper™ PRO 7965WX / NVIDIA RTX™ 5000 ADA gen. / 128 Go ECC).

Notre logiciel de métagénomique BioNumerics, que nous alimentons en continu depuis plus d'une décennie au sein du CNRvge, n'est malheureusement pas adapté pour les analyses des données NGS sur les virus entériques.

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

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

3. Activités de surveillance

Éléments clefs de l'activité de surveillance du CNRVge en 2024 :

- **surveillance du réseau national rotavirus** : analyses de 519 prélèvements de selles : forte prépondérance des génotypes G3eP[8] (80,8%) et G3P[8] (9,9%), suivis des G1P[8] (4,6%), G9P[8] (1,0%) et G12P[8] (0,6%) ; très faible circulation du génotype G2P[4] (0,4%) mais détection inhabituelle de G2P[8] (2,5%) dans plusieurs centres, et absence des G4P[8] pour la 6e saison consécutive.
- **surveillance des épidémies** :
 - analyses de 95 épidémies (282 prélèvements analysés) : survenue de épidémies tout au long de l'année avec un pic entre novembre et mars (71,6%),
 - 73 (77,8%) des épidémies sont survenues dans les EHPAD ou dans des hôpitaux,
 - transmission le plus fréquemment de personne-à-personne (43,2%) mais près d'un tiers des épidémies ont une transmission d'origine inconnue et un quart une origine alimentaire.

3.1 Description du réseau de partenaires

3.1.1 Réseau de surveillance des cas groupés de gastro-entérites

3.1.1.1 Réseaux de surveillance

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

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

- **Réseau Sentinelles** : notre interlocuteur en 2024 état Romain MARMORAT.

- **Les autres laboratoires de référence** :

- **IFREMER** – Centre de Nantes (Dr. Françoise LE GUYADER / Dr. Marion DESDOUITS) : laboratoire de référence pour les virus entériques dans les **produits de la mer**. Ce laboratoire fait partie du même réseau européen que le nôtre (NoroNet). Nous collaborons étroitement et en temps réel pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est un produit de la mer (alerte, investigation, comparaison des souches etc...).
- **ANSES – Unité de virologie des Aliments et de l'eau**, Maisons-Alfort (Dr. Sylvie PERELLE) : laboratoire de référence pour **l'eau et les aliments**. Nous collaborons avec ce laboratoire pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est alimentaire ou hydrique (alerte, investigation, comparaison des souches...).
- **ANSES – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy**, 40, Rue Lionnois F-54000 NANCY (Dr Benoît GASSILLOUD).
- **Centre National de Référence Virus des hépatites à transmission entériques (Hépatites A et E)**. AP-HP - Paris Paul Brousse (Pr. Anna-Maria ROQUE-AFONSO) et CHU de Toulouse (Pr. Jacques IZOPET / Dr. Florence ABRAVANEL). Nous collaborons étroitement avec ces CNR, notamment pour les épidémies d'origine hydrique ou alimentaire.
- **Centre National de Référence Entérovirus et Paréchovirus**, Hospices Civils de Lyon (Dr. Isabelle SCHUFFENECKER) et CHU de Clermont-Ferrand (Pr. Cécile HENQUELL / Dr. Audrey MIRAND). Nous collaborons étroitement avec les CNR : nous assurons la détection dans les selles, en cas de positivité, le prélèvement ou l'extrait d'acide nucléique est adressé au CNR des entérovirus et paréchovirus pour une caractérisation moléculaire et une enquête virologique spécifique.

3.1.1.2 Provenance des échantillons (Figure 5)

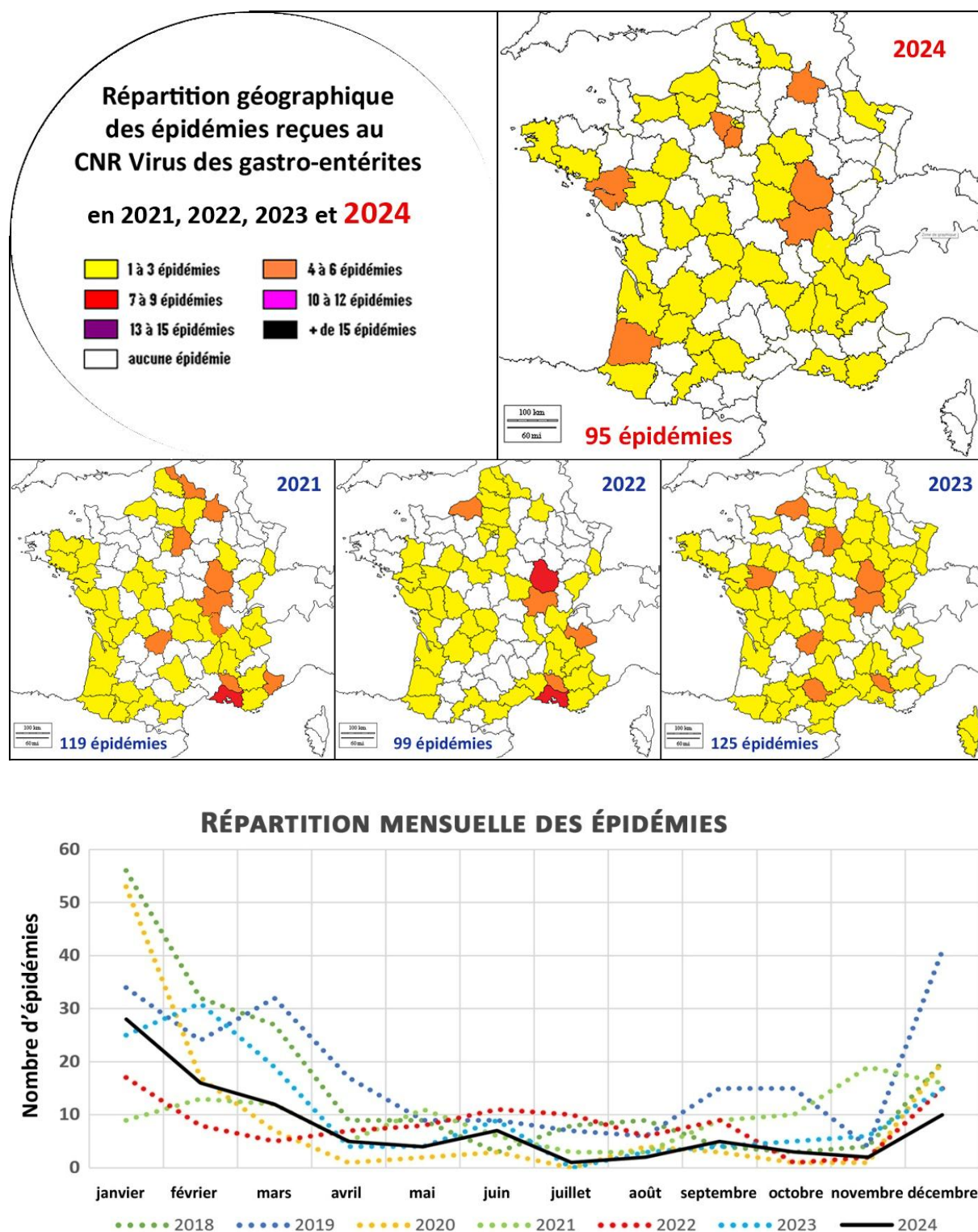


Figure 5 : Épidémies de cas groupés.

(a) Répartition géographique des épidémies reçues. Bilan de l'activité du CNR de 2021 à 2024. À noter que tous les départements nous ont envoyé des prélèvements au moins une fois depuis 2012 à l'exception de l'Eure-et-Loir (28).
(b) Répartition mensuelles des épidémies reçues. Bilan de l'activité du CNR de 2018 à 2024.

3.1.2 Réseau de surveillance des gastro-entérites à rotavirus

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

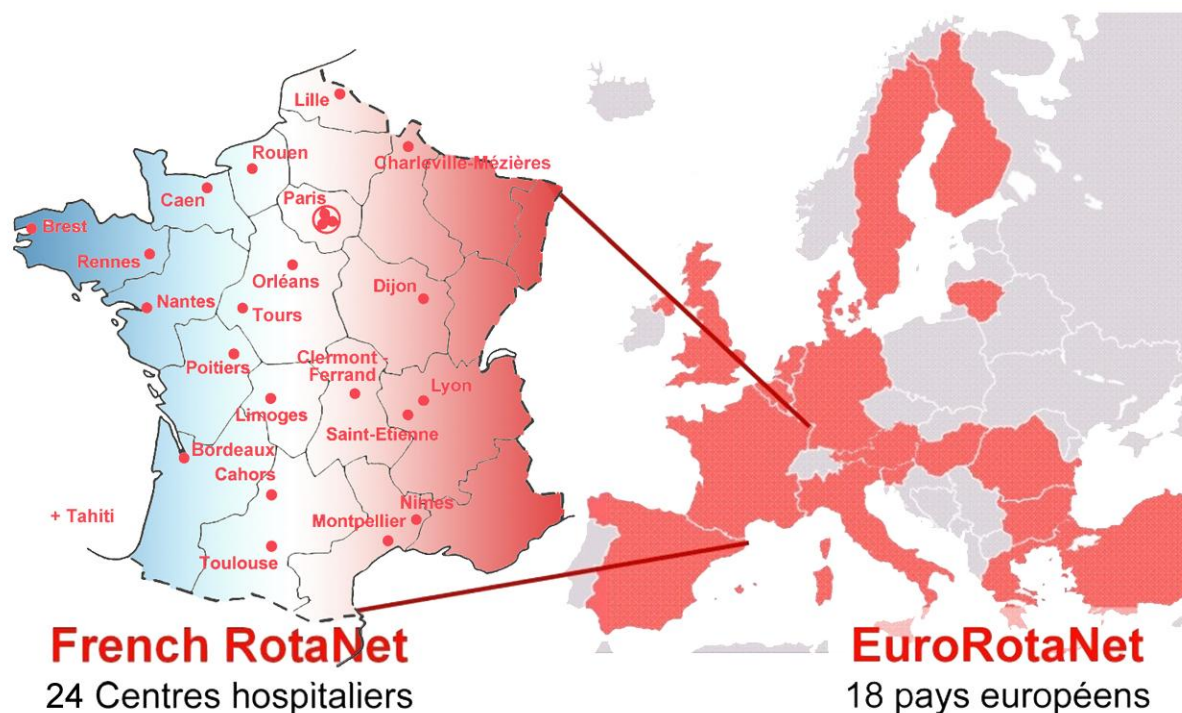


Figure 6 : Répartition des centres participant au réseau national rotavirus.

La recommandation de la vaccination contre rotavirus, suspendue en 2015, a été réintroduite dans le calendrier vaccinal par la HAS le 23 juin 2022. Les deux vaccins oraux historiques, Rotarix (GSK) et Rotateq (MSD France) qui avaient reçu l'AMM en 2006, sont désormais inscrits sur la liste des spécialités pharmaceutiques remboursables à 65% depuis fin 2022. Par conséquent, leurs utilisations, jusqu'ici quasi confidentielles avec une couverture <5% en France, pourraient désormais croître rapidement dans les prochaines années. En 2023, 31% des nouveau-nés ont été vaccinés. Dans sa stratégie vaccinale, la HAS recommande tout particulièrement « la poursuite de la surveillance des souches, cruciale pour documenter une éventuelle évolution de la prévalence des souches associées suite à l'introduction de la vaccination contre les infections à rotavirus ». Ce réseau s'inscrit résolument dans ces objectifs.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.1 Caractéristiques épidémiologiques des cas groupés

3.2.1.1 Aspect saisonnier des épidémies

La saisonnalité hivernale est très marquée pour les épidémies survenant en EHPAD et hôpitaux, au contraire de celles survenant dans les centres pour adultes ou lors de réceptions (Figure 7). On retrouve cette même différence si l'on compare les épidémies transmises de personne-à-personne (hivernales) de celle transmises par les aliments ou l'eau (toute l'année).

En 2024, 71,6% des épidémies analysées au CNR sont survenues entre novembre et mars (69,4% de 2012 à 2023) et 80,0% entre octobre et avril (80,4% de 2012 à 2022). Cette forte saisonnalité automno-hivernale concerne le plus souvent les épidémies survenant en établissements de soins et non pas celles survenant en collectivités ou dans les restaurants qui ont lieu toute l'année. Cette observation est comparable aux différences de saisonnalité entre les épidémies transmises de personne-à-personne et celles d'origine alimentaire ou hydriques.

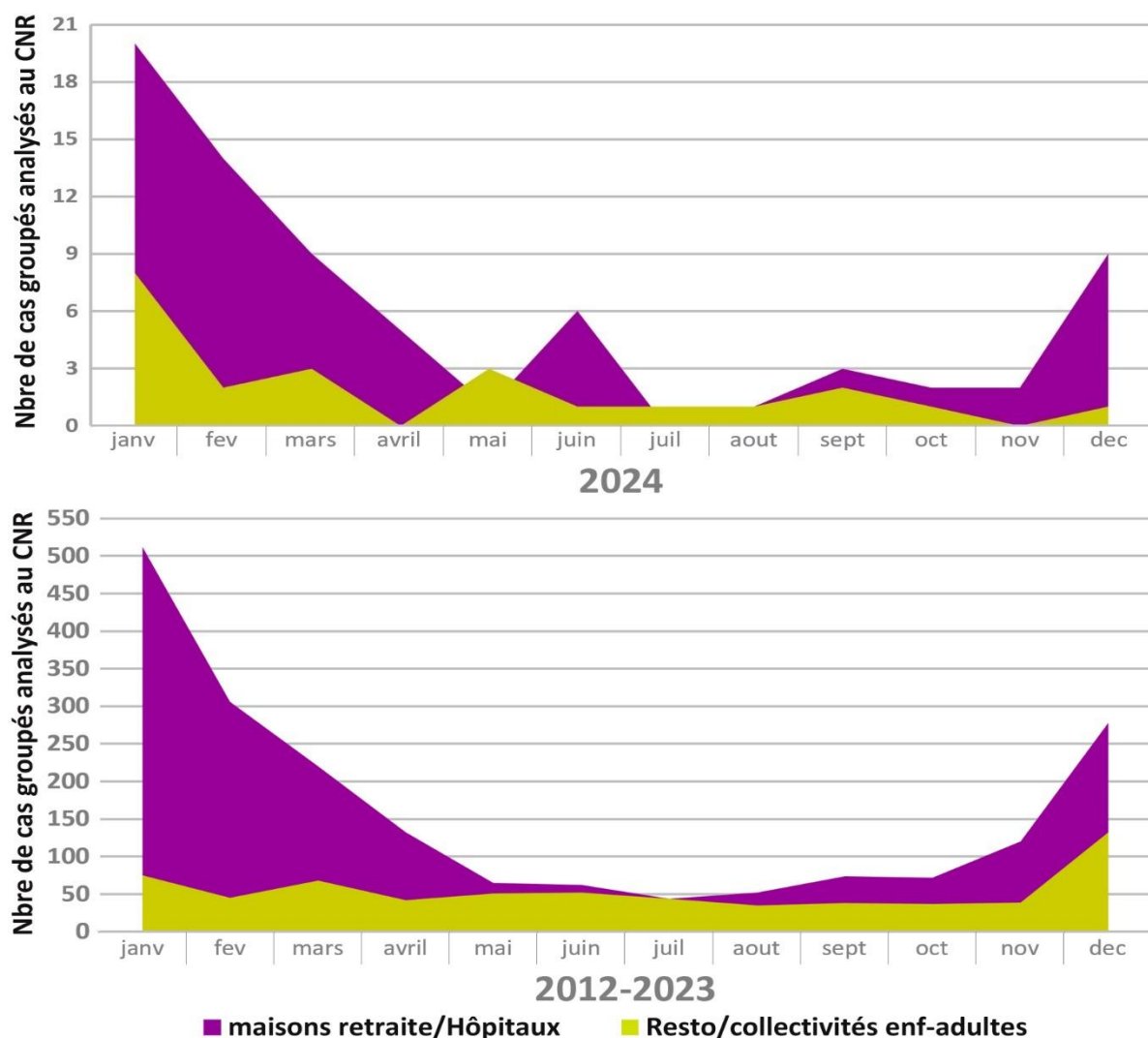


Figure 7 : Répartition temporelle des cas groupés pris en charge par le CNR en fonction de l'origine de l'épidémie. (a) bilan de l'activité du CNR en 2024 et (b) bilan de l'activité de 2012 à 2023.

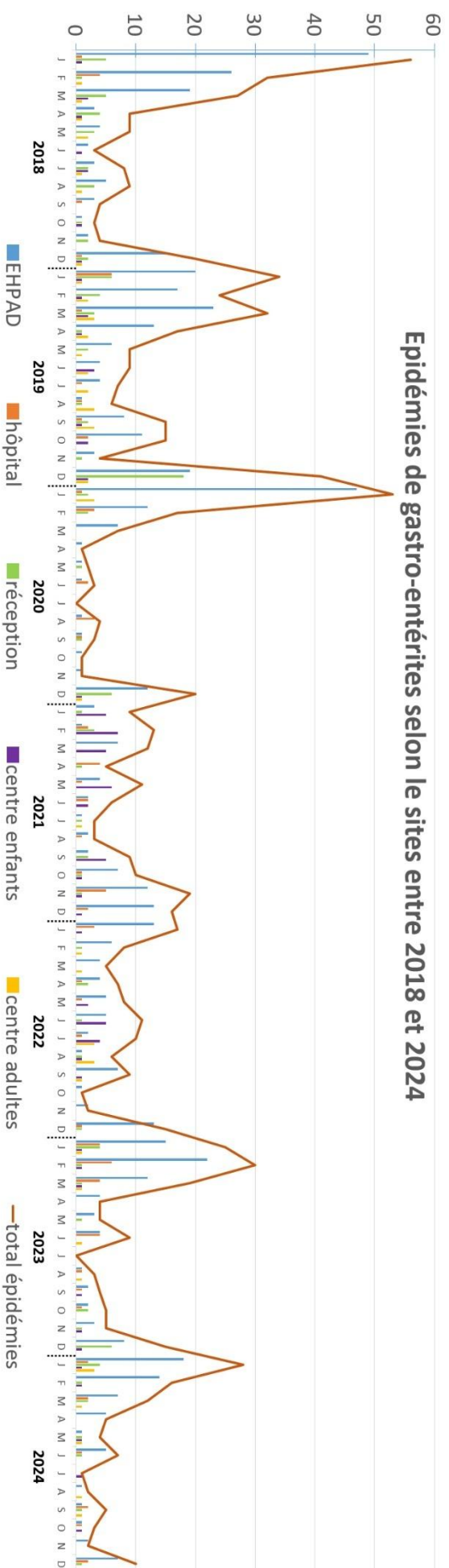
3.2.1.2 Sites et modes de transmission

Les modes de transmission observés en 2024 sont globalement similaires à l'ensemble de la période 2012-2023 (Tableau 6).

Tableau 6 : Répartition des épidémies selon le site et le mode de contamination.

sites/transmissions		pers-à-pers	inconnu	aliments	hydrique	Total
2024	EHPAD	33 (34,7%)	26 (27,4%)	4 (4,2%)	0 -	63 (66,3%)
	hôpitaux	6 (6,3%)	3 (3,2%)	1 (1,1%)	0 -	10 (10,5%)
	réception	0 -	0 -	11 (11,6%)	0 -	11 (11,6%)
	centre enfants	1 (1,1%)	2 (2,1%)	2 (2,1%)	0 -	5 (5,3%)
	centre adultes	1 (1,1%)	0 -	3 (3,2%)	2 (2,1%)	6 (6,3%)
	Total	41 (43,2%)	31 (32,6%)	21 (22,1%)	2 (2,1%)	95
2012-2023	EHPAD	1057 (43,2%)	505 (20,0%)	124 (4,9%)	14 (0,6%)	1700 (67,4%)
	hôpitaux	141 (5,6%)	99 (3,9%)	28 (1,1%)	0 -	268 (10,6%)
	réception	13 (0,5%)	11 (0,4%)	249 (9,9%)	0 -	273 (10,8%)
	centres enfants	62 (2,5%)	36 (1,4%)	72 (2,9%)	14 (0,6%)	184 (7,3%)
	centres adultes	21 (0,8%)	26 (1,0%)	48 (1,9%)	1 (<0,1%)	96 (3,8%)
	Total	1294 (51,3%)	677 (26,9%)	521 (20,7%)	29 (1,2%)	2521

Epidémies de gastro-entérites selon le sites entre 2018 et 2024



Transmission des épidémies de gastro-entérites en collectivités entre 2018 et 2024

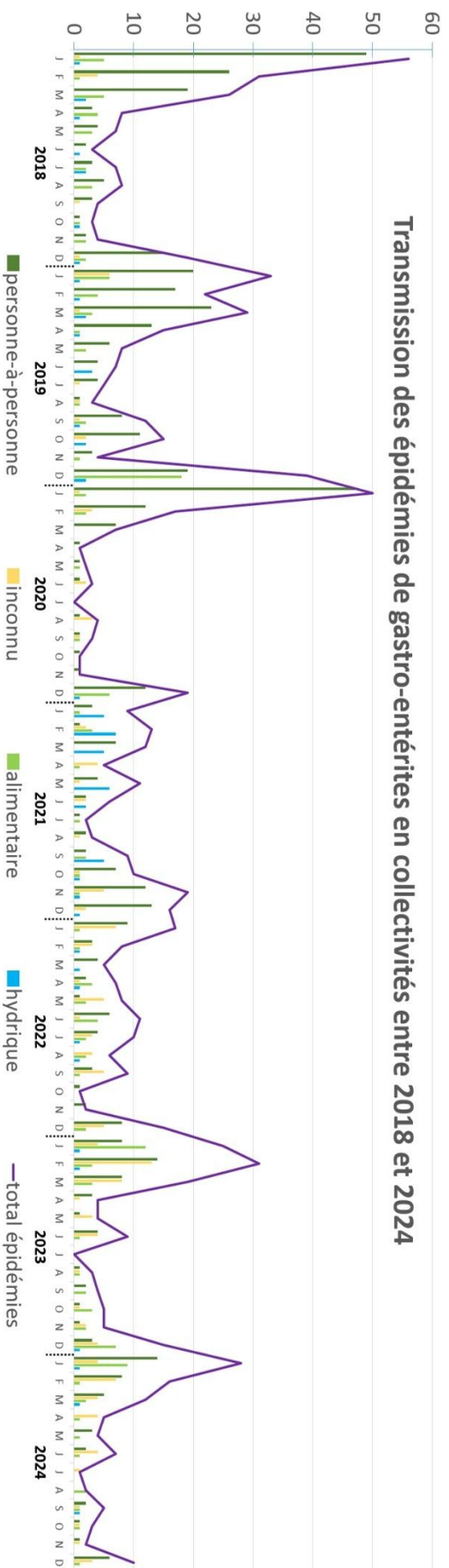


Figure 8 : Lieux et modes de transmission des épidémies de gastro-entérites entre 2018 et 2024.

– **Site ou établissement :**

En 2024, deux tiers des 95 épidémies sont survenues dans des EHPAD avec 63 épidémies (66,3%), ce qui est globalement similaire à ce qui est observé depuis 2012 (67,2%). Cette situation peut s'expliquer par le rebond de circulation des virus dans la population, touchant plus particulièrement les personnes âgées, et un recul des précautions sanitaires. Les nombres de cas observés dans les hôpitaux (10 ; 10,5%) et les réceptions (11 ; 11,6%) sont relativement stables tout comme ceux observés dans les centres (11 ; 11,6%).

– **Mode de transmission :**

En 2024, le mode de transmission de **personne-à-personne**, le plus fréquent, est incriminé dans 41 épidémies soit 43,2% des cas. Cependant, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour près d'un tiers des épidémies (31 ; 32,6%). Une origine alimentaire a été à l'origine de 21 épidémies (22,1%) où 8 épidémies (38,1% ; 8,4% de l'ensemble des épidémies groupées) étaient dues à des fruits de mer. Globalement, ces résultats restent superposables à ceux constatés au cours de la période 2012-2023.

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

En 2024, la majorité des épidémies est advenue dans des EHPAD ou des services hospitaliers mais avec une fréquence similaire qu'au cours de la période 2012-2023 (76,8% vs. 78,0%). Le principal mode de propagation des virus entériques dans ces établissements était une transmission de personne-à-personne (41,1% en 2024 vs. 62,4% de 2012 à 2023). Cependant, les causes inconnues restent encore fréquentes (30,5% en 2024 vs. 32,0% de 2012 à 2023). L'origine alimentaire y est toutefois retrouvée dans quelques épidémies (5,3% en 2024 vs. 8,4% de 2012 à 2023).

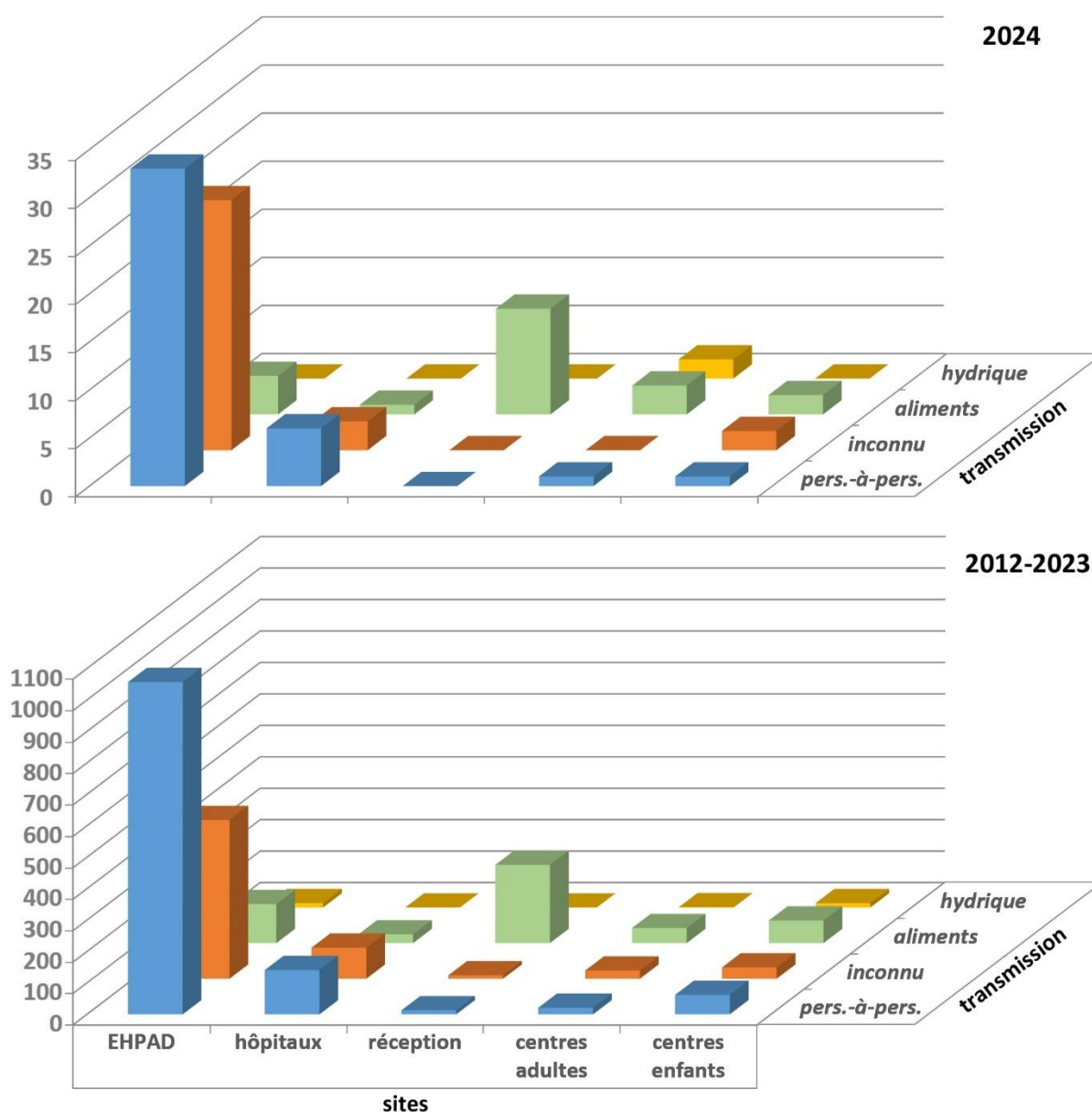


Figure 9 : Relation entre type d'établissement et le mode de transmission. (a) bilan de l'activité du CNR en 2024 et (b) bilan de l'activité de 2012 à 2023.

3.2.2 Caractéristiques virologiques des épidémies de gastro-entérites à rotavirus en France : bilan de la surveillance de la saison 2023-2024

Vingt-quatre centres participent périodiquement à cette étude depuis 2006 et **13 centres ont pu envoyer des prélèvements pour la saison 2023-2024** : Bordeaux, Dijon, Lille, Lyon, Montpellier, Nouméa, Orléans, Poitiers, Rouen, Saint-Etienne, Tahiti, Toulouse et Tours.

Au total, nous avons analysé **15.135 prélèvements de rotavirus entre 2006 et 2024 dont 521 prélèvements pour la saison 2023-24**.

3.2.2.1 Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus

Les infections à rotavirus sont saisonnières et surviennent durant les mois d'hiver. Au niveau européen, nos études avec le réseau EuroRotaNet montrent un gradient Sud-Nord et Ouest-Est avec un pic d'infections plus précoce en Espagne (décembre à février) et plus tardif (avril-mai) dans les pays du nord et de l'est de l'Europe. **En France, le pic d'infections de la saison 2023-24 était plutôt étalé avec une circulation virale lentement ascendante avant de s'accélérer pour atteindre un pic entre mars et avril**, avec une activité épidémique inhabituellement élevée au mois de septembre et d'octobre.

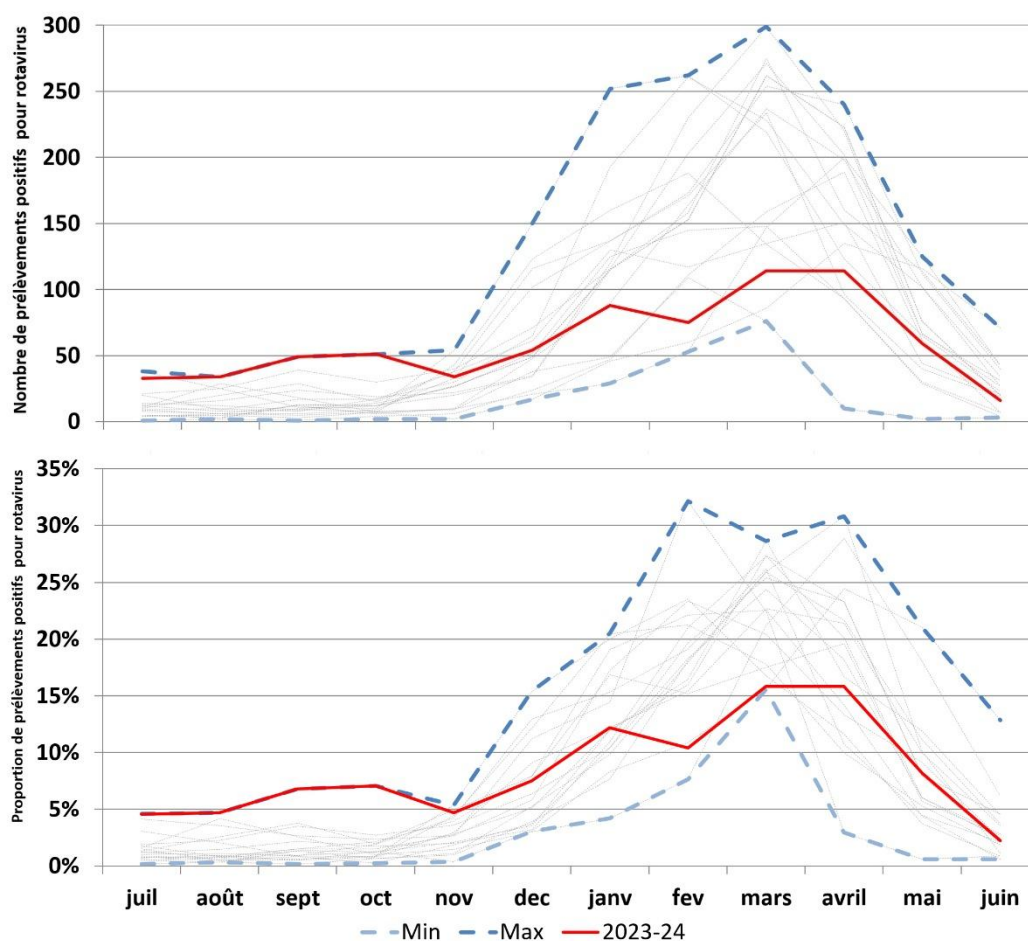


Figure 10 : Distribution temporelle des infections à rotavirus pour la saison 2023-24 comparée aux maximums et minimums des saisons de 2006 à 2024.

Globalement, depuis le début de la surveillance des infections à rotavirus, il y a peu de différence d'une année à l'autre puisque le pic des infections a lieu en mars pour 10 (55,5%) saisons de 2006 à 2024, en février pour 4 (22,2%) saisons en 2007-08, 2016-17, 2019-20 et 2021-22, et en avril pour 4 (22,2%) saisons en 2006-07, 2018-19, 2020-21 et 2022-23. Les mois les plus importants sont février-mars-avril pour 10 saisons (2006-07, 2009-10, de 2011-12 à 2015-16, 2017-18, 2018-19 et 2023-24), janvier-février-mars pour 6 saisons (2007-08, 2008-09, 2010-11, 2016-17, 2019-20 et 2021-22). En revanche, les mois les plus importants sont mars-avril-mai pour 2 saisons (2020-21 et 2022-23) ce qui est plus tardif que ce qu'il a été observé depuis 2006.

3.2.2.2 Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P

Saison 2023-2024 (Figure 11)

En tout 519 prélèvements ont été caractérisés au cours de la saison 2023-24, dont 9 typés partiellement. En comparaison avec l'étude globale, les résultats importants de cette dernière saison sont :

- le **génotype G3eP[8]**, une souche G3 « *equine-like* », continue sa nette progression depuis son émergence au cours de la saison 2017-18, pour atteindre au cours de cette nouvelle saison 80,8% des souches génotypées. Ces nouvelles souches recombinantes humain-équine allient un segment VP7 de type G3 d'origine équine à une constellation de gènes d'origine humaine dont un segment VP4 de type P[8] (soit un profil DS1-*like* : G3-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2). Le génotype G3P[8], quant à lui, est en net retrait avec 9,9% des souches génotypés. Avec les souches G3eP[8], les souches G3/G3eP[8] représentaient 90,7% de toutes les souches génotypées en circulation.
- le **génotype G1P[8]**, en retrait depuis la saison 2015-16, reste le deuxième génotype circulant avec 4,6% des souches circulantes sur cette saison et reste le premier génotype toutes saisons confondues (38,7%).
- les **génotypes G9P[8] et G12P[8]** sont très en retrait au cours de cette saison avec des fréquences respectives de 1,0% et 0,6%.
- le **génotype G2P[4]** est dans une situation très inhabituelle avec une fréquence très faible de 0,4% (3 souches), situation qui n'a jamais été observée jusqu'ici, avec l'apparition de souches G2P[8] (14 souches), soit 2,7% des souches.
- à noter l'absence pour la 7^e saison consécutive de la circulation du génotype G4P[8].

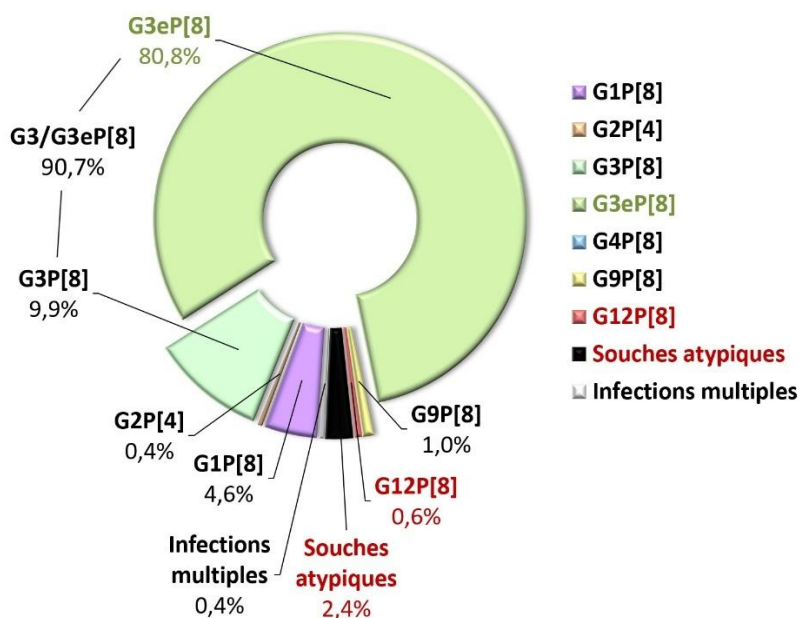


Figure 11 : Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant la saison 2023-2024 (510 prélèvements typés G et P)

Bilan 2006-2024 (Figure 12)

Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2023-2024 est de **15.135 souches de rotavirus** dont 320 partiellement caractérisées et 423 non typables (Tableau 8). La persistance d'un nombre de souches non ou partiellement typables (5,3% depuis 2001) est liée à la très bonne sensibilité de nos méthodes de détection et ne reflète pas l'émergence de souches atypiques. La détection par PCR en temps réel, plus sensible, entraîne en effet une augmentation des prélèvements diagnostiqués positifs mais dont les charges virales sont généralement très faibles et donc non typables.

Les quatre principales combinaisons de génotypes G/P ont été durant ces dix-neuf années : **G1P[8] (38,7%) suivie de G9P[8] (27,5%), cumulant à elles seules près des deux tiers des souches détectées (66,2%), puis G3/G3eP[8] (19,9%) et G2P[4] (5,5%)**. Les autres combinaisons d'importance significative étaient **G12P[8] (3,2%) et G4P[8] (1,7%)**.

(En termes de moyennes des fréquences saisonnières depuis 2006 : G1P[8] = 35,2% ; G2P[4] = 5,4% ; G3/G3eP[8] = 22,6% ; G4P[8] = 1,5% ; G9P[8] = 25,9% ; G12P[8] = 3,5% ; souches atypiques = 1,5% ; typages partiels = 2,3%)

Ainsi, les six combinaisons génotypiques désormais classiques (G1/G3-G3e/G4/G9/G12P[8] et G2P[4]) représentaient 96,4% des souches caractérisées. Les **génotypes ou combinaisons atypiques** (incluant notamment quelques associations de génotypes G et P classiques) représentent 2,1 % et les infections mixtes 1,5%.

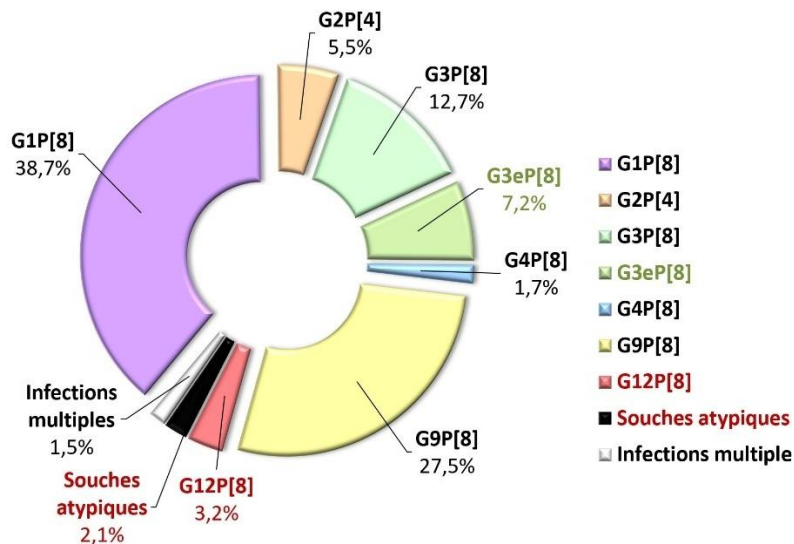


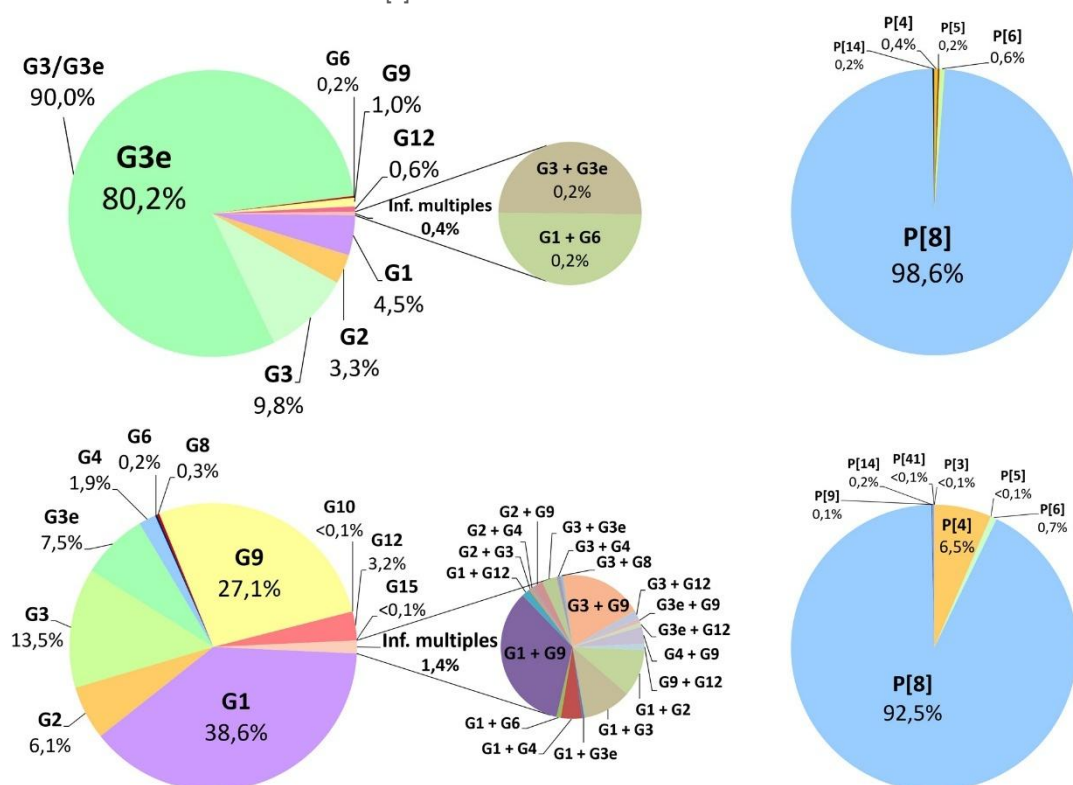
Figure 12 : Distribution des combinaisons de génotypes G et P des rotavirus détectés en France durant l'ensemble de la surveillance 2006-2024 (14.392 souches génotypées G et P)

3.2.2.3 Analyse de la répartition des génotypes G ou P

L'analyse séparée des **génotypes G** montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France en 2023-2024 étaient limités à une souche **G6** (2 souches, 0,2%). Aucun génotype G5, G8 ou G10 (souches d'origine bovine) n'a été caractérisé durant la saison 2023-2024.

Les faits marquant de cette saison 2023-2024 sont la **forte circulation des rotavirus G3/G3e** avec une fréquence globale de 90,0% (459 souches) dont **essentiellement des rotavirus G3e** (80,2% ; 450 souches), la **circulation faible des rotavirus G1 et G2** avec des fréquences respectives de 4,5% (23 souches) et 3,3% (17 souches), et la **circulation anecdotique des rotavirus G9 et G12** avec des fréquences respectives de 1,0% (5 souches) et 0,6% (3 souches).

Les **génotypes P** sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** avec globalement 92,5% entre 2006-2024 et 99,1% en 2023-24, alors que le génotype **P[4]** représente globalement 6,5% entre 2006-2024 et 0,5% cette dernière saison. Ce résultat concernant le génotype P[4] sera à considérer dans le suivi des effets de la vaccination même si les dernières données montrent que les variations sont essentiellement dues à une fluctuation naturelle saisonnière. À noter que 14 des 17 souches G2 sont des souches G2P[8].



Figures 13 et 14. Distribution des génotypes G et P détectés en France pour la saison 2023-24 et entre 2006 et 2024

Tableau 8 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2024, et durant la saison 2023-2024.

		Nombre de souches de rotavirus génotypées					
		2006-2023 n=14392		2023-2024 n=510		2006-2024 n=14902	
Génotypes G	G1	5558	38,6%	23	4,5%	5581	37,5%
	G2	873	6,1%	17	3,3%	890	6,0%
	G3	1939	13,5%	50	9,8%	1989	13,3%
	G3e	1085	7,5	409	80,2	1494	10,0
	G4	278	1,9%	-	-	278	1,9%
	G6	33	0,2%	1	0,2%	34	0,2%
	G8	42	0,3%	-	-	42	0,3%
	G9	3906	27,1%	5	1,0%	3911	26,2%
	G10	2	<0,1%	-	-	3	<0,1%
	G12	466	3,2%	3	0,6%	469	3,1%
	G15	2	<0,1%	-	-	2	<0,1%
Infections mixtes (types G)	G1 + G2	22	0,2%	-	-	22	0,1%
	G1 + G3	23	0,2%	-	-	23	0,2%
	G1 + G3e	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	G1 + G4	10	0,1%	-	-	10	0,1%
	G1 + G6	2	<0,1%	1	0,2%	3	<0,1%
	G1 + G9	71	0,5%	-	-	71	0,5%
	G1 + G12	4	<0,1%	-	-	4	<0,1%
	G2 + G3	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	G2 + G4	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	G2 + G9	5	<0,1%	-	-	5	<0,1%
	G3 + G3e	7	<0,1%	1	0,2%	8	0,1%
	G3 + G4	2	<0,1%	-	-	2	<0,1%
	G3 + G8	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	G3 + G9	39	0,3%	-	-	39	0,3%
	G3e + G9	2	<0,1%	-	-	2	<0,1%
	G3 + G12	4	<0,1%	-	-	4	<0,1%
	G3e + G12	2	<0,1%	-	-	2	<0,1%
	G4 + G9	8	0,1%	-	-	8	0,1%
	G9 + G12	3	<0,1%	-	-	3	<0,1%
Génotypes P	P[1]	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	P[3]	3	<0,1%	-	-	3	<0,1%
	P[4]	938	6,5%	2	0,4%	940	6,3%
	P[5]	1	<0,1%	1	0,2%	2	<0,1%
	P[6]	107	0,7%	3	0,6%	108	0,7%
	P[8]	13272	92,2%	503	98,6%	13775	92,4%
	P[9]	9	0,1%	-	-	9	0,1%
	P[14]	33	0,2%	1	0,2%	34	0,2%
	P[41]	1	<0,1%	-	-	1	<0,1%
	P[4] + P[8]	26	0,2%	-	-	26	0,2%
Infections mixtes (types P)							

La constance et l'hégémonie de la prévalence du génotype P[8] entre 2006 et 2024 est rassurante et doit être soulignée s'agissant de l'efficacité de la vaccination puisque les deux vaccins commercialisés possèdent cette valence antigénique dans leur composition.

3.2.2.4 Variations temporelles des combinaisons de génotypes G/P

1/ Variations des génotypes G/P entre 2006-2024 (Figure 15)

Évolution des génotypes G/P « classiques »

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

- **le génotype G1P[8]** : relativement stable depuis près de 9 ans, il a vu sa fréquence chuter avec la réémergence des G9P[8] puis des G3/G3eP[8] (entre 53,0% et 73,1% entre 2005 et 2015 ; entre 9,0% et 16,8% en 2015 et 2019 ; et seulement entre 6,0 et 11,7% depuis 2019-20). Ce phénomène a déjà été observé en 2004-05 mais il n'avait duré qu'une seule saison.
- **le génotype G2P[4]** évolue de façon cyclique selon les saisons, oscillant entre 0,4% et 17,2% en fréquence. Au cours de la dernière saison 2024-25, on notera son plus bas niveau de fréquence depuis 20 ans avec seulement 0,4% des souches génotypées mais surtout l'apparition de souches G2P[8] en nombre inhabituel qui représentent 2,7% des souches génotypées au cours de la saison.
- **le génotype G3P[8]** : jusqu'ici sa fréquence restait relativement faible avec quelques pics de détection supérieur à 10% au cours des saisons 2002-03, 2003-04 et 2011-12. Les saisons 2017-18 et 2018-19 indiquaient une probable réémergence de ce génotype qui s'est confirmée au cours de la saison 2019-20, en particulier du fait de l'émergence de la souche G3e *equine-like* qui représentait en 2023-2024 près de 4 souches sur 5.
- **le génotype G4P[8]** circulait à bas niveau depuis plus de 20 ans avec un maximum à 19,8% au cours de la saison 2002-03. Les souches G4P[8] ne sont plus détectées depuis 6 saisons.
- **le génotype G9P[8]** : après sa brutale émergence en 2004-05 (65,0%), sa fréquence diminuait régulièrement de 25,1% à 6,3% en 2012-2013. Sa réapparition à un taux élevé au cours des saisons 2013-14 et 2014-15 (22,0% puis 32,1%) puis sa réémergence au cours des saisons 2015-16 et 2016-17 (64,1% et 74,1%, respectivement) et son maintien à des fréquences élevées au cours des saisons 2017-18 et 2018-19 (45,9% et 51,0%) laissent des interrogations quant à sa circulation et son évolution d'autant que cette forte prévalence semble concerner plus particulièrement la France à contrario des pays européens voisins. Après un regain de circulation au cours de la saison 2020-21, G9P[8] n'a que peu circulé au cours de la saison 2023-24 avec une fréquence de seulement 1,0%.
- **le génotype G12P[8]** : son émergence récente (4,2% en 2011-12 et 3,0% en 2012-13) laissait penser qu'il deviendrait l'un des six génotypes importants en France. Après quelques saisons creuses (0,6% à 2,8% de détection), ce génotype a été détecté à une fréquence particulièrement élevée de 19,5% (52 souches) en 2019-20 confirmant la persistance et l'accélération de la circulation des rotavirus G12 en France. Cependant, sa circulation subit d'importantes variations saisonnières avec, au cours de la dernière saison, une fréquence très faible de 0,6%.
- les résultats des génotypages des prochaines saisons seront à regarder de près avec soit une réémergence des G1P[8] au détriment des G3eP[8], soit avec des accroissement/persistance de circulation d'autres génotypes d'importance tels que G9P[8], l'éventuelle émergence d'un nouveau génotype (par exemple G8P[8]) ou la montée des G2P[8], voire la réémergence du génotype G4P[8].

Évolution des génotypes ou combinaisons atypiques

- **les génotypes atypiques** sont les génotypes G6, G8, G10, G15, P[1], P[3], P[5], P[6], P[9], P[14] et P[41]. Sur l'ensemble de l'étude, elles représentent 192 souches (1,3%) dont 3 (0,6%) en 2023-24. Parmi ces génotypes inhabituels, le génotype P[6] est le plus important (107 souches au total). Certaines souches peuvent être d'origine animale, notamment bovine et caprine. Il s'agissait pour la dernière saison des 4 souches suivantes : G2P[6] (1), G6P[8] (1), G6P[14] (1) et GUDP[5] (1). Bien que non détectées cette saison, les souches G8P[8] restent à surveiller car elles pourraient émerger dans les prochaines saisons à l'instar des G9P[8] (2004-05) et G12P[8] (2011-12). Cette combinaison génotypique montre l'adaptation des souches G8 à l'homme.
- **les combinaisons atypiques**, par exemple G2 associé à P[8] ou G1, G3, G4, G9 ou G12 associés à P[4] représentent 0,6% des souches détectées de 2006 à 2024, et 2,5% des souches avec 13 souches G2P[8] au cours de la saison 2023-24.

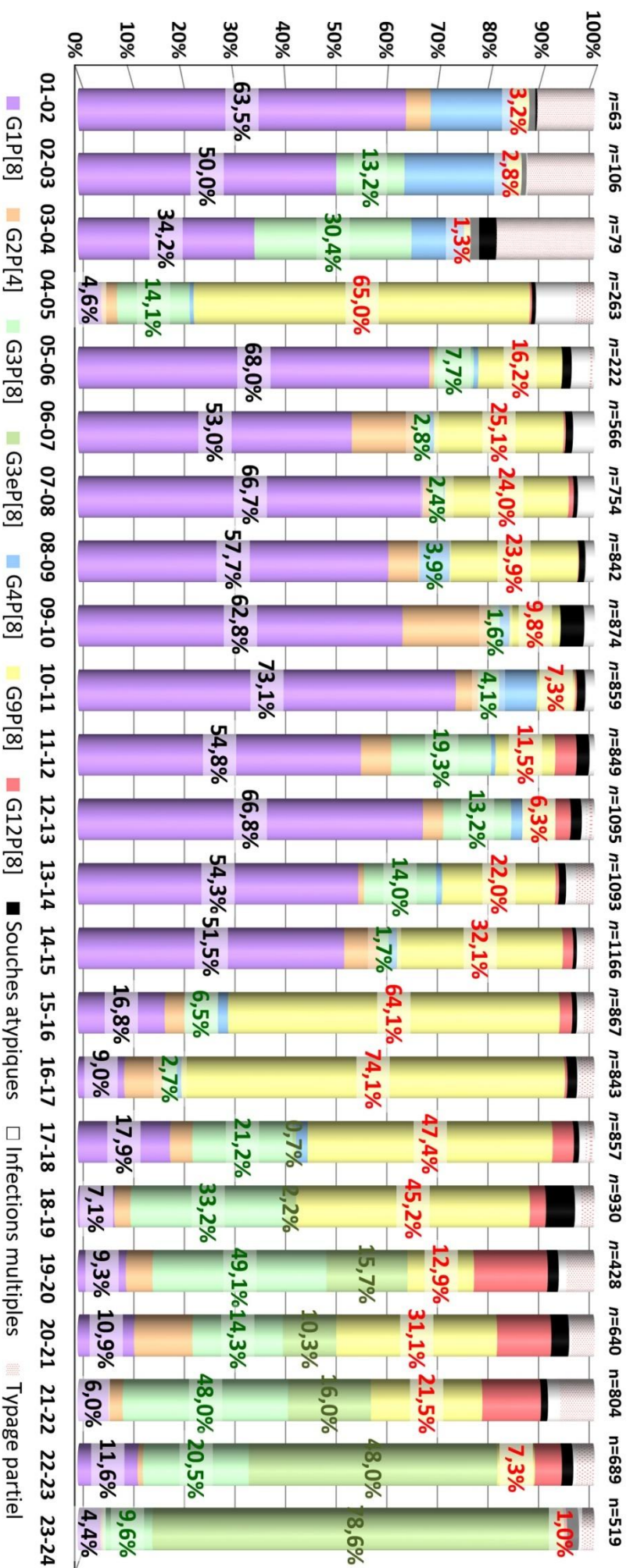


Figure 15. Évolution des combinaisons de génotypes G/P de rotavirus en France entre 2001 et 2023
(Noter que la période 2001 à 2006 est une étude limitée.)

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

Nous avons montré dans les précédents rapports qu'il existait une **variabilité géographique, selon les centres**. Néanmoins, nous retrouvons lors de cette saison 2023-24 une faible variabilité géographique pour les villes de métropole conséquence de la forte prévalence des souches G3eP[8] avec des fréquences de détection allant de 33,3% (Lille) à 100% (Poitiers) sur la totalité des centres métropolitains. Hors métropole, des souches habituelles sont encore responsables de la majorité des GEA alors qu'elles ne circulent quasi pas en métropole : à Nouméa, les G3eP[8] sont absentes et ce sont les souches G9P[8] qui prédominent encore (66,7%) ; à Tahiti, malgré une fréquence de détection des G3eP[8] de 30,8%, ce sont les souches G1P[8] qui prédominent (46,2%). La circulation des autres souches classiques est plus anecdotique. En revanche, la circulation des souches inhabituelles G2P[8] se retrouvent dans plusieurs centres : Lyon, Saint-Etienne, Tahiti, Toulouse et Tours.

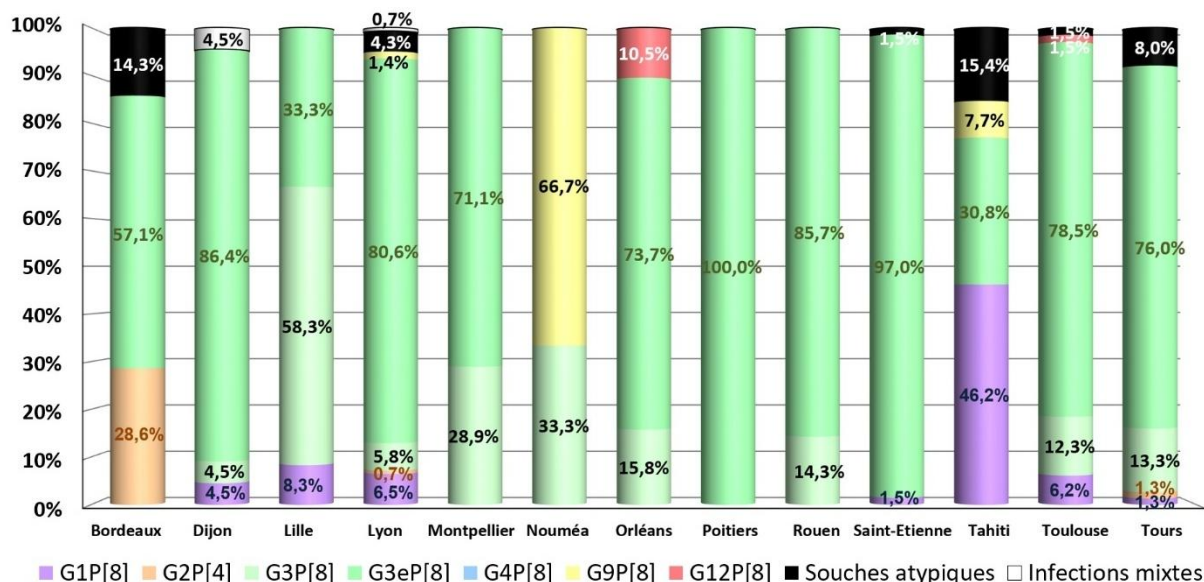


Figure 16 : Distribution des génotypes en France selon les centres durant la saison 2023-24

3.2.2.5 Conclusions

La surveillance épidémiologique des souches de rotavirus a été effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale suffisante. En effet, la couverture vaccinale reste encore très faible en 2023, où seuls 31% des nouveau-nés ont été vaccinés, malgré la recommandation et le remboursement des vaccins contre rotavirus (Rotarix® (monovalent, GSK) et Rotateq® (pentavalent, Merck) en 2022. Il est encore trop tôt pour observer les effets de la vaccination dans la population française.

La distribution saisonnière des épidémies de gastro-entérites à rotavirus s'étale en France principalement entre décembre et avril avec de faibles variations selon les saisons. On observe au cours de cette saison 2023-24 une hégémonie des souches G3eP[8] et l'apparition de souches inhabituelles G2P[8] qui seront à surveiller. Depuis 2001, on observe depuis 2001 :

- la **prédominance du génotype G1** à l'exception de la saison 2004-05 et jusqu'à la saison 2015-16.
- l'**émergence de nouveaux génotypes** :
 - le **génotype G9** est devenu depuis la saison 2004-25 un génotype « classique » avec G1, G2, G3 et G4. Il a réémergé au cours de la saison 2015-26. Sa circulation est en nette régression depuis la saison 2022-23.
 - le **génotype G12** a émergé au cours de la saison 2011-12 mais de manière moins « brutale » que pour les G9P[8]. Ce génotype circule de manière régionale en France mais a connu une brève augmentation de sa circulation (19,9%) au cours de la saison 2019-20. Sa circulation est en nette régression au cours de la saison 2023-24.
 - le **génotype G3 equine-like** (G3e) a émergé progressivement au cours de la saison 2017-18 jusqu'à devenir prépondérant au cours des dernières saisons, et représenter 4 souches sur 5 au cours de la saison 2023-24.
- la **variation cyclique des génotypes G2** dont la nouvelle souche G2P[8] qui sera à surveiller lors des prochaines saisons.
- la **variation cyclique des génotypes G3** dont la réémergence au cours de la saison 2017-18 à laisser place au G3eP[8].
- la **disparition des G4** depuis 6 saisons consécutives.
- la stabilité de la fréquence des souches inhabituelles (notamment le génotype P[6]) et l'existence, parmi celles-ci, de **souches d'origine animale** infectant les enfants.

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

3.3 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

3.3.1 Réseaux internationaux *NoroNet* et *EuroRotaNet*

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

Composition du réseau européen EuroRotaNet (15 laboratoires répartis dans 13 pays européens): Allemagne, Autriche, Belgique, Danemark, Espagne, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Italie, Royaume-Uni, Slovaquie et Suède.

Le réseau européen « **NoroNet** » est une continuation du réseau FBVE qui regroupait 13 laboratoires européens et était constitué à partir de financements de la Communauté Européenne. Ce réseau devenu mondial regroupe maintenant plusieurs laboratoires européens, d'Amérique du Nord et du Sud, d'Asie et d'Océanie. Il a pour mission la surveillance et la caractérisation des virus des gastro-entérites, essentiellement les norovirus. Il nous offre l'accès et le partage d'une base de données ; la possibilité d'une comparaison des souches de norovirus et d'une surveillance prospective des nouveaux variants. Il est un outil majeur de la caractérisation des souches de norovirus détectées. Le CNRVge participe à ce réseau depuis sa création. Nos partenaires français sont SpF et l'IFREMER.

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

3.3.2 Relations avec les pays du Sud

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

Les collaborations avec le Maghreb sont le plus souvent soutenues par les programmes CMCU et Hubert Curien du Ministère des Affaires Étrangères et du Ministère de la Recherche. Durant l'année 2024, ce réseau a été principalement actif avec le **Maroc** via un co-encadrement d'une thèse de doctorat d'université avec le Pr. Jamal Eddine HAFID de l'Université Cadi Ayyad de Marrakech, portant sur l'épidémiologie des virus entériques dans les eaux usées. Le laboratoire Bioressources et Sécurité Sanitaire des Aliments (LBio2SA) bénéficie ainsi de l'expérience du CNRVge pour la mise en place des méthodes de détection comprenant les techniques et les échantillons positifs de contrôle.

4. Alertes

4.1 Contact hebdomadaire avec Santé publique France (SpF)

Un point hebdomadaire avec Santé Publique France est effectué en visio-conférence le mardi de novembre à avril. Le réseau Sentinelles est associé à cette réunion téléphonique. Nos contacts à SpF sont Mesdames Nathalie JOURDAN-DA SILVA et Athinna NISAVANH. Notre interlocutrice au réseau Sentinelles a été Monsieur Romain MARMORAT.

4.2 Procédures d'alerte de SpF et des autres partenaires

Chaque épidémie reçue au CNR est déclarée à SpF ainsi qu'au réseau Sentinelles lors de la réunion hebdomadaire. Un bilan écrit est également communiqué par mail.

Lors d'événements particuliers, tels que, par exemple, des TIAC liées à la consommation d'huîtres, les échanges d'information se font par mail ou par téléphone au fur et à mesure de leur arrivée, sans attendre le point hebdomadaire. La même procédure d'échanges d'informations se met également en place avec l'IFREMER et l'ANSES si besoin.

4.3 Description de l'infrastructure informatique

Les échantillons reçus au CNR sont enregistrés dans notre base de données sur serveur sécurisé, numérotés avec un numéro unique d'identification interne, incrémenté par ordre d'arrivée. Ils sont de plus identifiés par un n° code-barre unique avant d'être stockés au CRB. Chaque épisode de cas groupés de gastro-entérites aiguës pour lequel le CNR reçoit des échantillons est identifié par un code unique.

5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

5.1.1 Site internet : www.cnr-ve.org

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

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



5.1.2 Activité de formation

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

Stagiaires accueillis en 2024 :

- M. Samy DE OLIVEIRA (Université Bourgogne Europe/L'Institut Agro Dijon) : doctorant PhD.
- Mme Perrine MAS (Université Bourgogne Europe/L'Institut Agro Dijon) : doctorante PhD.
- Dr. Ajla HODŽIĆ BORIĆ, DVM (Université Bourgogne Europe/Université de Sarajevo) : doctorante PhD en cotutelle.
- Mme Hibatallah LACHKAR (Université Bourgogne Europe/Université de Marrakech) : doctorante PhD en cotutelle.

5.1.3 Activité de conseil aux professionnels de santé

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

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

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

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

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

Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) : le responsable du CNRvge a été membre titulaire du groupe de travail « sécurité virale » dès 2018 puis membre titulaire du Comité Scientifique Permanent « Sécurité et Qualité des Médicaments », section « sécurité virale et sécurité microbiologique » depuis 2019 où il est intervenu à plusieurs reprises afin d'élaborer des recommandations pour la sécurisation des dons de transplantation de microbiote fécal (TMF). En 2024, des questionnements autour de la possible répllication du SARS-CoV-2 dans l'intestin ont été abordés.

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

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

6.1 Activités de recherche

Outre les activités de surveillances épidémiologiques, en particulier à l'aune de la réintroduction des vaccins contre rotavirus et des projets internationaux portant sur un éventuel vaccin contre les norovirus humains, les activités de recherche du CNRvge s'articulent autour de deux volets : étude des virus des gastro-entérites dans un contexte médical (pédiatrie, gériatrie, pathologies inflammatoires, etc.) et étude des virus des gastro-entérites dans l'environnement et l'alimentation, par conséquent en tant que flore négative.

Lors des 12 derniers mois, le laboratoire héberge ainsi quatre étudiants en thèse, étudiants dont le laboratoire a la responsabilité de l'encadrement. Les sujets de recherche abordés rentrent dans le cadre des missions de recherche du CNRvge

6.1.1 Travaux en cours d'étude

- **Surveillance des souches de rotavirus du groupe A** et de leur dérive antigénique dans un contexte vaccinal chez l'enfant grâce à un Réseau National Rotavirus étendu. En particulier, nous nous intéresserons à l'émergence de nouveaux génotypes ainsi qu'à l'impact de la vaccination sur la sélection préférentielle de souches de rotavirus. Nous poursuivrons également l'étude de la relation entre HBGA (antigènes tissulaires de groupes sanguins) et rotavirus, et pour laquelle nous avons acquis une solide expérience au CNR.
- **Surveillance des souches de norovirus épidémiques** et l'émergence de nouveaux variants/génotypes dans la population. Ces dernières années, nous avons étudié l'évolution du nouveau norovirus GII.17 aussi bien sur le plan antigénique qu'épidémiologique. L'émergence des GII.17 n'a duré que deux ans, ce génotype a alors cédé sa place au GII.4. De la même façon, nous allons travailler sur le variant GII.4 Sydney. Un des objectifs est de déterminer quels facteurs favorisent l'émergence de nouveaux norovirus et font le succès des norovirus GII.4. Comme pour les rotavirus, nous allons concentrer nos efforts sur l'incidence des norovirus chez les personnes de phénotype non-sécréteur.
- **Thèse de doctorat d'université #1 : « Développement de capteurs électrochimiques et électromagnétiques pour la détection du Norovirus dans des matrices alimentaires ».** La détection des virus entériques en clinique et dans l'environnement repose exclusivement sur l'utilisation de la PCR en temps réel. Il existe cependant des méthodes alternatives. Dans ce projet, des capteurs électrochimiques seront utilisés comme méthode de détection grâce à leurs avantages multiples tels que la rapidité, la facilité d'utilisation, la possibilité d'une analyse sur place et un faible coût. Le manque de sélectivité des capteurs électrochimiques dans des échantillons complexes comme les aliments pourrait être surmonté en les couplant avec des polymères à empreintes moléculaires. Les polymères à empreintes moléculaires (MIP) sont synthétisés en présence du virus. Les paramètres de synthèse sont choisis afin de provoquer des interactions complémentaires entre le polymère et le virus. Après synthèse, le polymère est lavé dans le but d'éliminer les virus. Ce qui génère au sein du polymère des cavités complémentaires au virus en termes de taille, de forme et d'interactions chimiques. Les MIP ainsi obtenus présenteront une affinité pour le virus équivalente à celle entre les anticorps et les antigènes. Les capteurs à base de polymères à empreintes moléculaires (MIP) surmontent de nombreuses limites des méthodes de détection traditionnelles et offrent la possibilité d'une détection sensible, sélective et peu coûteuse à l'aide d'équipements miniaturisés. Grâce à leur capacité de reconnaissance moléculaire hautement spécifique et à leur grande stabilité dans des conditions chimiques et physiques difficiles, les polymères à empreintes moléculaires ont été déjà utilisés pour la détection sélective de virus. Cependant, très peu d'applications sur des matrices alimentaires existent à ce jour. Ce projet de thèse vise à concevoir de nouveaux polymères à empreintes moléculaires pour la reconnaissance spécifique de virus et leur intégration dans des capteurs électrochimiques. Les modalités retenues pour ce projet seront l'utilisation du bactériophage MS2 en raison de ses similitudes structurales avec les norovirus, de la maîtrise de ses conditions de productions au laboratoire et de sa non-pathogénicité pour l'homme. Nous commencerons la validation du capteur dans un milieu modèle aqueux. Ce modèle sera complexifié jusqu'à une matrice alimentaire type lait. Des silices à empreintes moléculaires seront développées (MIS) grâce à leurs avantages par rapport aux MIP en termes de sélectivité. Les méthodes électrochimiques sont parfaitement adaptées à des milieux liquides aqueux. Deux méthodes électrochimiques seront utilisées : la voltamétrie impulsionnelle différentielle qui est adaptée à l'analyse de traces et la spectroscopie d'impédance électrochimique qui a montré son efficacité pour la détection de virus. Très innovants, ces capteurs électrochimiques sont prioritairement destinés à l'industrie agro-alimentaire.

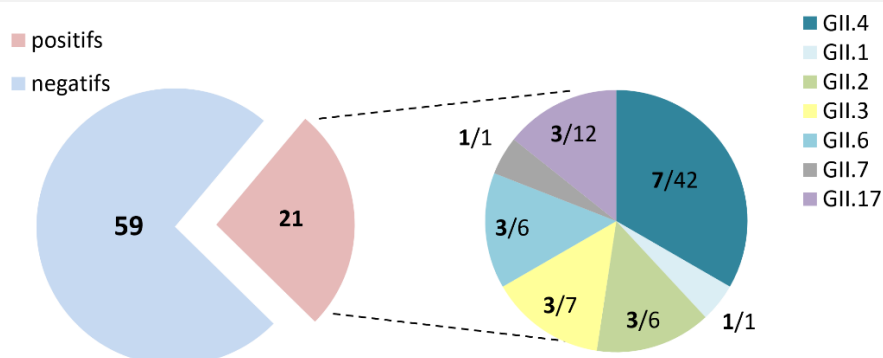
- **Thèse de doctorat d'université #2 : « Influence de l'interaction bactérie-virus sur la résistance bactérienne et virale à des procédés de décontamination des aliments ».** Ces travaux de recherche porte sur les interactions possibles entre la flore bactérienne et les norovirus humains. Le rôle des antigènes tissulaires de groupe sanguin (HBGA) lors de l'infection par les norovirus est accepté par la communauté scientifique. Le rôle et l'importance de la flore intestinale dans ces processus restent à élucider. L'objectif de ces travaux est de reproduire in vitro les interactions entre bactéries et virus. En raison de l'absence d'un système de culture cellulaire efficace, des particules virales de synthèse (VLP), des substituts non infectieux, ont été développées pour la recherche. Le projet vise à mettre en évidence des interactions potentielles entre les micro-organismes et les norovirus dans le but d'identifier les paires micro-organisme-virus, de caractériser leurs interactions et d'évaluer leur impact sur la résistance au traitement, afin d'améliorer la compréhension de la dynamique des co-infections et des stratégies de décontamination. Pour cette étude, les VLP de norovirus GII.4 et GII.17 seront testées sur plus de 70 souches microbiennes cliniquement et agronomiquement pertinentes, dont une quarantaine de bactéries pathogènes, des ferments et des levures. L'étude de cette interaction pourrait fournir des informations précieuses sur la virulence et la prévalence du norovirus humain, d'autant plus que le génotype GII.17 présente une affinité de liaison plus élevée.
- **Thèse de doctorat d'université #3 : « Pathologie du syndrome du jeune pigeon en Bosnie-Herzégovine : caractérisation morphologique et étiologique ».** Ces travaux de recherche porte sur les rotavirus aviaires. L'élevage de pigeons est largement pratiqué dans le monde entier. Lors des expositions et compétitions, les pigeons sont en constante interaction, favorisant la transmission de pathogènes dans la volée. Les maladies des pigeons restent insuffisamment étudiées, laissant de nombreuses incertitudes sur l'étiologie de certaines maladies, comme la Maladie des Jeunes Pigeons (MJP). La MJP affecte principalement les pigeons voyageurs âgés de 4 semaines à 6 mois, bien qu'elle ait été également rapportée chez des pigeons plus âgés. Il s'agit d'une maladie aiguë saisonnière se manifestant par des signes d'anorexie, de diarrhée, de congestion du jabot, de perte de poids et de dépression, et la mort. Jusqu'à récemment, la MJP était décrite comme une maladie multifactorielle liée à des pathogènes variés. Le circovirus du pigeon (PiCV) est souvent associé à cette maladie, car il est fréquemment détecté chez les pigeons atteints de MJP. Cependant, le PiCV est également détecté chez un pourcentage élevé de jeunes pigeons sains, indiquant que la présence de ce virus n'entraîne pas nécessairement le développement de la maladie. Une analyse approfondie a montré que la maladie était causée par un rotavirus du groupe A (RVA) de génotype G18P[17] (souche PO-13). Alors que les rotavirus sont généralement associés à des symptômes gastro-intestinaux chez l'homme et l'animal, chez le pigeon, la souche PO-13 tend à générer une infection extra-intestinale dont les charges virales les plus élevées sont détectées dans le foie. Les atteintes histologiques hépatiques comportent une dissociation hépatocellulaire et une nécrose, souvent accompagnées de voies irrégulières serpigineuses dans le parenchyme. Une prolifération biliaire marquée peut également être observée, et dans la plupart des cas, on note une infiltration de macrophages, parfois accompagnée de lymphocytes. Un diagnostic définitif est établi par détection de l'ARN du RVA par RT-qPCR dans le tissu hépatique. PO-13 est à ce jour la seule souche aviaire connue pour infecter les mammifères et provoquer des altérations pathologiques. Le RVA est hautement infectieux, même à de faibles concentrations, et représente une menace forte pour les volées en raison de sa propagation rapide. Son potentiel de recombinaison et de mutation suscite également des préoccupations tant pour la santé publique que vétérinaire, soulignant l'importance de la détection rapide des pathogènes pour limiter la propagation de la maladie.
- **Thèse de doctorat d'université #4 : « Prévalence, caractérisation moléculaire et répartition spatio-temporelle des virus entériques dans la région de Marrakech-Safi ».** Ces travaux de recherche porte sur les virus entériques et leurs détections dans les eaux du Maroc. Les virus entériques sont nombreux et dotés d'une grande résistance dans l'environnement. Ils sont souvent transportés par l'eau dans laquelle ils ne se répliquent pas, mais ils restent infectieux en dépit des traitements appliqués notamment dans les stations d'épuration et les réseaux de distribution. Ces virus, présents dans différents types d'eau (consommation, baignade, irrigation) demeurent un réel problème de santé public tant dans les pays industrialisés que dans ceux en développement. Au Maroc, si le risque bactérien et parasitaire est relativement bien évalué, il en va tout autrement du viral, qui est peu étudié, jusqu'à ce jour, malgré les nombreuses pathologies qui lui sont associées. Compte tenu du manque de données scientifiques pertinentes, nous proposons de faire un état des lieux prospectif sur les souches sauvages et mutantes de quelques virus entériques (adénovirus, rotavirus, norovirus, virus de l'hépatite A et le virus de l'hépatite E) en les recherchant et caractérisant, par des approches moléculaires, dans les eaux de puits, de robinet et d'irrigation de plusieurs provinces de la région de Marrakech-Safi, afin de connaître aussi bien la persistance selon le type d'eau que la transmission et le pouvoir infectieux des souches de ces virus en circulation et de corrélérer leur présence à la survenue d'épisodes épidémiques chez l'Homme dans les zones d'étude. Les objectifs scientifiques sont multiples au travers de transfert de technologies entre la France et le Maroc dont la maîtrise des techniques d'extraction, de purification, d'identification et de caractérisation moléculaire des virus à partir des eaux.

6.1.2 Travaux en cours de finalisation

1/ Human norovirus replication in zebrafish larvae

Les travaux de recherche sur l'utilisation du modèle poisson zèbre pour la réplication des norovirus humains est terminé. Pour les besoins du projet, une centaine de souches a été testée et pour environ 20% des échantillons, la réplication du norovirus a été possible. L'analyse statistique fine des résultats a montré que la réplication dépendait plus de l'isolat que du génotype. L'utilisation de sels biliaires permet d'augmenter sensiblement le niveau de réplication. L'analyse histologique des poissons zèbre n'a pas permis de détecter de manière claire les HBGA dans le fretin de poisson zèbre. Dans le prolongement de ces travaux, le CNRvge est associé avec le laboratoire Santé, Environnement et Microbiologie (IFREMER, Nantes) pour l'étude comparative des organoïdes et du modèle poisson zèbre. Ces travaux sont financés par Le fonds européen pour les affaires maritimes, la pêche et l'aquaculture (FEAMPA).

Abstract: The absence of robust cell culture for human norovirus (HuNoV) has been a stumbling block for years. Recently, the use of organoids derived from small intestine (HIE, human intestinal enteroid) tissue has made possible the cultivation of several HuNoV strains. Van Dycke and colleagues has recently documented the replication of HuNoV in zebrafish larvae (*Danio rerio*). Here, we proposed to assess the zebrafish model for the HuNoV cultivation. 80 stool suspension in phosphate buffered saline (PBS) (HuNov GII.4 (42); HuNov GII.17 (12); HuNov GII.6 (6); HuNov GII.3 (7); HuNov GII.2 (6); HuNov GII.1 (1); HuNov GII.7 (1); HuNov GII Untypeable (5)) were microinjected into 3 days zebrafish larvae. The larvae were either directly sacrificed and subjected to RNA extraction (t=0) or incubated for 3 days at 32°C before extracting the total RNA (t=3). Real-time PCR was conducted on t=0 and t=3 samples. The level of amplification was determined based upon the $\Delta Ct = Ct(t=0) - Ct(t=3)$. For 26% of the samples, we observed a robust amplification (0.5 to 4 Log10). Amplification was only noticed for GII HuNoV. Success of the amplification was essentially correlated with the initial viral load of the sample. No amplification was observed for sample, which the suspension Ct was above 30. Sample with Ct comprised between 15 and 25 gave the best results. Surprisingly, the predominant GII.4 HuNoV strains didn't give the best results for the amplification with only 7 out of 42 samples (7/42) that replicated. For the other genotypes, the results were as follow: GII.1 (1/1), GII.2 (3/6), GII.3 (3/7), GII.6 (3/6), GII.7 (1/1) and GII.17 (3/12). No amplification was observed with norovirus GI samples. At last, the addition of bile salts into the stool suspension somewhat improved the amplification yields. Finally, the sensitivity of the zebrafish system was similar to that of observed for HIE. Unlike HIE, the age of the stool donor was irrelevant. Inversely, high viral load was paramount for a robust amplification. Further experiments will be required to determine the best amplification conditions and artificially increase the viral load of each sample prior to injection.



2/ GII.4 HBGA binding properties are related to variants and isolates

Ces travaux referment un pan de recherche sur l'étude des interactions entre HBGA et norovirus GII.4. Dans ces travaux, nous avons démontré que les interactions chez les non sécréteurs relevaient plus de la souche que du génotype. L'analyse des séquences de souches presque identiques mais de phénotypes différents pour l'accroche aux HBGA caractérisant le phénotype non-sécréteur (Lewis a) a permis de démontrer que le changement de quelques acides aminés suffisait à changer le profil d'accroche aux HBGA pour deux souches appartenant aux mêmes variants. Ces premières observations suggéraient que la capacité d'attachement à l'antigène Lewis ne constituait en aucun cas un gain évolutif mais était plutôt une caractéristique ancillaire de ces souches. En outre, l'étude de variants étroitement apparentés a montré que certaines caractéristiques telles que la liaison à l'antigène Lewis a dépendaient de la souche et non du variant. Les mesures d'affinité aux HBGA vont dans le même sens et confirme que pour les GII.4, l'attache aux HBGA n'était pas lié à l'évolution puisque les variants 2006b, maintenant disparus, interagissent plus fortement que les variants 2012 qui prédominent actuellement. Pour la première, nous avons démontré l'accroche spécifique de certaines souches avec l'acide sialique, ubiquitaire, sous forme de Sialyl-Lewis a, lors des poussées inflammatoires observées chez les MICI.

Abstract: For decades, human noroviruses (HuNoVs) GII.4 have been the most predominant genotype, worldwide. To date, the histo-blood group antigens (HBGAs) are the only known ligands for HuNoVs. The interaction HuNoV-HBGA has been thoroughly studied in the past showing that GII.4 genotype is by far the most efficient binder. However, it has not been determined whether the capacity to interact with HBGAs is variant-dependent or is unique to each GII.4 isolate. Here, we study the HBGA-HuNoV interactions of several isolates from the 2006b, 2007, 2010 and 2012 variants. Electron microscopy and diffusion light scattering showed that VLPs were well structured making possible the comparison of each isolate. The emergence of new variants didn't correlate with an increase of the binding capacity to HBGAs. Binding to nonsecretor is a feature shared by all the 2006b strains. Inversely, for post-2006b variants, the binding to non-secretor is isolate dependent. Additionally, for two strains, we have demonstrated a specific binding to GM1 sugar moiety. Because the strains from the study were closely related, genetic comparison of the ORF2 amino acid sequences showed that 3 to 6 residues are likely involved into the binding to GM1 carbohydrate moiety or the Lewis a antigen, the later characterizing non secretor saliva. This study shows that emergence of post 2006b GII.4 variant is not necessarily correlated with an increased binding capacity to HBGAs.

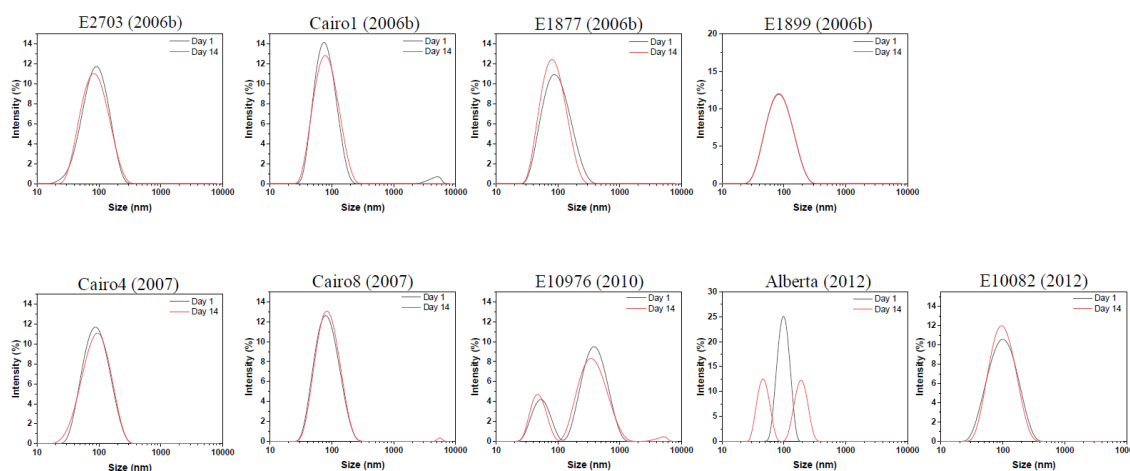


Fig. Size distribution of the VLP preparations. The size corresponds to the intensity-weighted mean hydrodynamic diameter (Z_{ave}) and is given in nm (ordinate). The relative intensity is given in percentage. The size distribution was estimated at day 1 (black) and day 14 (red). The name of each isolate and the variant (in parentheses) are given above each graph.

3/ Rapid viral detection in milk using near infrared spectroscopy combined with chemometrics and neural networks

Ce travail présente une nouvelle méthode de détection qui s'appuie sur la spectroscopie dans le proche infrarouge (NIR) pour permettre la détection virale en temps réel sans qu'il soit nécessaire d'extraire le virus, en obtenant des résultats comparables à ceux des techniques établies telles que la RT-PCR. L'importance de cette innovation réside dans sa capacité à surmonter les limites actuelles des flux de travail de détection virale en offrant une alternative rapide, non invasive et rentable. En éliminant l'étape d'extraction, cette approche simplifie non seulement le processus mais réduit également le risque de contamination des échantillons, ce qui la rend très attrayante pour des applications en virologie, en sécurité alimentaire et en surveillance environnementale en temps réel. Sa mise en œuvre pourrait révolutionner les protocoles de détection des pathogènes dans des domaines critiques, notamment la production laitière, et la santé publique. Les résultats de détection par spectroscopie NIR des bactériophages MS2 dans le lait montrent que la technique est reproductible (expérience répétée après 8 mois) et les mesures précises. Grâce à l'application de l'analyse chimiométrique, la NIRS a atteint la limite de quantification de 80 particules virales par millilitre. La méthode NIRS a démontré une forte corrélation avec la méthode standard PFU (*Plaque Forming Unit*). Nos résultats démontrent la capacité prometteuse de la spectroscopie NIR à détecter les virus dans une matrice alimentaire liquide complexe à un faible niveau de contamination.

Abstract: Human norovirus is the leading cause of foodborne illnesses, necessitating rapid, reliable, and cost-effective detection methods. Near InfraRed Spectroscopy (NIRS) offers real-time analysis with minimal preparation. Semi-skimmed UHT milk samples spiked with 11 MS2 bacteriophage concentrations (a Norovirus surrogate) were analyzed in quadruplicate. The experiment was repeated by a second operator after 8 months. Partial least squares regression based on 3-way multiblock models predicted virus concentrations and correlated NIRS spectra with the PFU reference method. A 5-fold cross-validation with four pretreatments was applied to 88 samples. Calibration and prediction models using multiplicative scatter correction followed by standard normal variate yielded high R^2 values (0.98 and 0.95) with 14 latent variables. A two-layer perceptron achieved an R^2 of 0.947 showing a good prediction of the viral concentration. NIRS quantified 80 PFU/mL in complex matrices, rivaling RT-PCR (102-103 viral particles per mL), demonstrating its viability for viral detection.

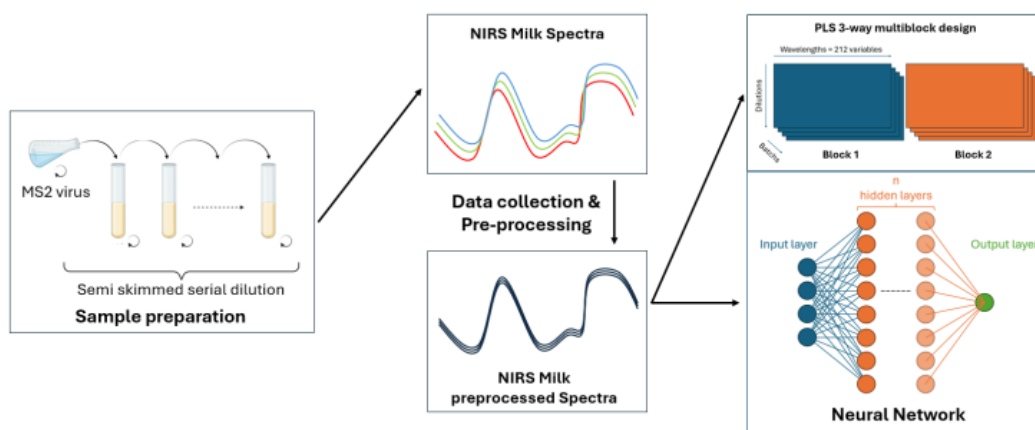


Fig. Sample preparation and chemometric methods applied to NIRS data

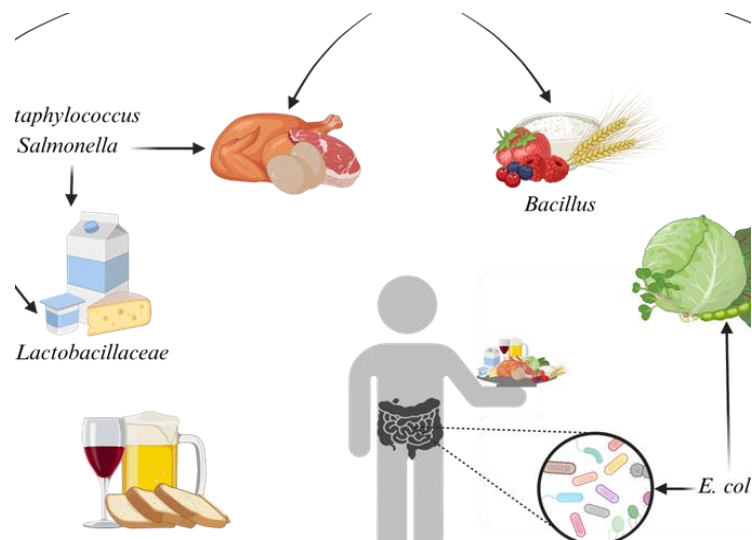
4/ Design of a new hybrid material: silicate human norovirus-like particles for medical uses

Dans des travaux précédents, nous avons conçu des particules hybrides, silice-protéine, à partir de VLP de norovirus humain. Dans le cadre d'autres travaux en anatomie pathologique, nous avons démontré que ces VLP interagissaient spécifiquement avec les zones inflammatoires de l'intestin, surexprimant l'antigène Lewis a. Dans le prolongement de ces travaux et de par son expérience dans la production de particules virales de synthèse, le CNRvge a été intégré, cette année, dans un projet collaboratif regroupant, entre autres, les universités et les CHU de Bourgogne et de Franche Comté, sur l'élaboration de nouveaux outils thérapeutiques, utilisable en cancérologie et dans les processus inflammatoires. Ce projet est financé par un Fonds européen de développement régional (FEDER).

Abstract: Virus-like particles (VLPs) can be produced in large amount in the baculovirus system. Following baculovirus infection in insect cell, capsid protein (VP1) can self-assemble in fully functional VLP. The VLPs present biological properties similar to those of native virions and can be used as a platform for the development of new delivery systems for therapeutic or agri-food purposes. In this study, we designed silica-armored VLP. External mineralization was obtained by using silica precursors (i.e. TEOS and APTES). The mineralization was performed by sol-gel process after activating carboxylic amino acids on GII.17 surfaces using coupling agents (EDC/NHS). No silica was condensed on the surface of the VLPs without activating the carboxylic groups on the VLPs. Electron microscopy observation showed that the mineralized particles were 45 nm in diameter, and a thicker and disordered silica layer was obtained with a higher concentration of TEOS and an increased reaction time. Silica mineralization of the VLP was associated with a better stability of the particles to the pH and high temperature. New hybrid particle retained their biological properties, especially their capacity to specifically attach their natural ligands, the histo-blood group antigens (HBGAs). At last, hybrid VLPs were covalently linked to fluorescein as tracer. The new fluorescent particles were then successfully used in histology for labeling colorectal tumors overexpressing HBGA on histological tissue sections.

5/ Binding characterization and implications of the attachment of human norovirus-like particles to food microorganism

Abstract: Human norovirus is a major cause of foodborne gastroenteritis, known for its resistance to decontamination and persistence in various environments. It interacts with histo-blood group antigens, its only known ligand. Due to the absence of an efficient cell culture system, virus-like particles, non-infectious surrogates, have been developed for research. This study investigated potential interactions between microorganisms and norovirus, aiming to identify microorganism-virus pairs, characterize their interactions, and assess their impact on treatment resistance, to improve understanding of pairs dynamics and to decontamination strategies. For this study, GII.4 and GII.17 virus-like particles were tested against seventy-seven clinically and agronomically relevant microbial strains, including forty-four pathogenic bacteria, four ferments, and six yeasts. *S. aureus* and *E. cloacae* showed specific interactions with GII.17 virus-like particles, via surface sugar-dependent interactions, as confirmed by sodium periodate treatment. Surprisingly, no binding was observed with predominant GII.4 particles. Competition experiments suggest that histo-blood group antigens-like structures are not involved in interaction. Interaction was directly observed using atomic force microscopy. It was observed that particles attachment occurred in the exopolysaccharide matrix, as exemplified for *E. cloacae*. Environmental factors, such as pH and oxygen availability, significantly affect binding efficiency, with increased binding in citrate buffer while virus-like particles binding was totally abolished under anaerobic conditions. Additionally, bound particles enhanced bacterial heat resistance. Studying this interaction could provide valuable insights into the virulence and prevalence of human norovirus, particularly as the GII.17 genotype exhibits a higher binding affinity but is less prevalent.



6/ Human norovirus binding and replication in the immature digestive tract

Abstract: Human noroviruses (HuNoV) are a major public health concern, with millions of deaths worldwide every year due to gastroenteritis. In the premature infant, data regarding the impact of HuNoV remain scarce, with epidemiological evidence of necrotizing enterocolitis and colonic ischemia. Histo-blood group antigen (HBGA) expression in the immature fetal digestive tract also remains poorly studied, as previous studies demonstrated variable expression of ABH(O) and Lewis antigens due to the early expression of FUT2 and FUT4 in the gastrointestinal tract. In this study, we aim to precise the binding patterns and replication mechanisms of epidemiological strains (GI.2, GII.4, GII.3 and GII.17) of human noroviruses in the immature intestinal tract. Twelve non-macerated fetuses were selected in the Department of Pathology archives, previously autopsied following medical termination of pregnancy or stillbirth, ages between 19 and 39 Weeks of Amenorrhea (WA). Tissue blocks included stomach (n=12), duodenum, (n=12), jejunum-ileum (n=12), proximal colon (n=10) and distal colon (n=10). Immunohistochemistry was performed on 4 μ m-thick slides for HBGA detection and following VLP incubation using specific monoclonal anti-HBGA and strain-specific anti-VP1 antibodies. In the stomach, VLP binding remained strong irrelevant of ABH(O) expression, except for one Lea- non secretor fetus. Duodenal ABH(O) antigen detection revealed 5 non-secretor fetuses and 7 secretor fetuses. In the small intestine, VLP binding and HBGA expression remained strong for secretors and of variable intensity for non-secretors. Surprisingly, VLP binding and HBGA expression remained strong in the proximal colon irrelevant of the secretor phenotype, in association with strong Lea expression. Oppositely, the distal colon weakly bound HuNoV (especially GII.17 and GII.4) and variably expressed ABH(O) antigens in association with Lex and Ley antigens. We then hypothesized that HuNoV binding and replication occurred in the fetal immature jejunum-ileum and proximal colon irrelevant of the secretor phenotype. To confirm this hypothesis, we performed VLP binding experiments in organoids derived from the fetal ileum (FI124) and fetal proximal colon (FC124) as well as the fetal distal colon (FC68). Our experiments confirmed GII.4 and GII.17 binding in association with the strong expression of the sLea/Lea antigens in FI124 and FC124 organoids. The FC68 expressed Le^{x/y} antigens as well as the H antigen, and bound GII.4, GII.17 and GI.2 VLP. Further HuNoV replication experiments confirmed HuNoV replication in all organoid cell lines according to previous VLP binding experiments. Our data confirms the possible binding and replication of HuNoV in the fetal immature jejunum-ileum and proximal/distal colon. In accordance with previous data published in the literature, the association between HuNoV and necrotizing enterocolitis (NEC) could be partly linked to HuNoV putative binding and/or replication in the jejunum-ileum and colon, both anatomical sites usually affected by NEC. Further studies using fetal organoids and HuNoV could bring new clues to the genesis of necrotizing enterocolitis in HuNoV-infected prematurely born infants in neonatal intensive care units.

7/ Lipid rafts are a putative port of entry during HuNoV infection

Abstract: Human norovirus (HuNoV) infection has clearly been associated with the presence of histo-blood group antigens (HBGAs). HBGAs are the only known documented ligands for HuNoVs. HBGAs are naturally expressed in the small intestine and in a lesser extent in the proximal colon. Human intestinal enteroids (HIEs) support HuNoV replication and they naturally express HBGA. It has been shown that the absence of HBGA is usually correlated with the absence of infection in patient and replication in HIEs. Here, we analyze the relation between lipid rafts and HBGA during HuNoV infection based upon the study of detergent resistant membranes (DRMs). Because the DRM analysis required large amount of biological material, the use of HIE was unfit for this kind of study. Instead, we used immortalized cell lines, Caco-2 and HT-29, that are derived from colonic carcinoma and expressed HBGA. We confirmed that Caco-2 and HT-29 largely expressed H and A antigens,

respectively. DRMs originated from 900 cm² of differentiated Caco-2 and HT-29 monolayers. The DRM were extracted using a Triton-based extraction protocol and purified by ultracentrifugation on a gradient sucrose. The DRM-enriched fraction was confirmed by the presence of cholesterol and flotillin, which are lipid raft markers. We demonstrated that the presence of HBGAs and VLP binding was strongly associated with DRMs. The purified DRM fractions were then used to characterized the ligand involved into the VLP binding. Sialidase treatment has no effect on VLP binding indicating that ganglioside-like molecules are not involved into the recognition of HuNoV. Inversely, VLP binding to DRM was abrogated when DRM fractions were first treated with α 1,2-fucosidase, which selectively removed the α 1,2 fucose from the H antigen from Caco-2 cell or incubated with helix pomatia lectin, which specifically recognizes the A antigen from HT-29 cell. Therefore, VLP binding to DRM involved HBGA. It is noteworthy to mention that the preincubation of the cell monolayer with methyl- β -cyclo-dextrin prevented the formation of DRM. However, the HBGA were still present suggesting that the ligands were disseminated at the surface of the cell in the absence of DRM. Far eastern blot of DRM fraction resolved by thin layer chromatography suggested that HBGAs are part of neutral glycolipids. Experiments are under way to confirm the presence of similar glycolipids in human duodenal tissues.

6.1.3 Travaux publiés

1/ Persistence of human Aichivirus infectivity from raw surface water to drinking water

Abstract: Human Aichi virus 1 (AiV-1) is a water- and food-borne infection-associated picornavirus that causes gastroenteritis in humans. Recent studies on environmental waters showed a high frequency and abundance of AiV-1, suggesting that it might be an appropriate indicator of fecal contamination. We screened 450 surface and drinking water samples from a Tunisian drinking water treatment plant (DWTP) and the Sidi Salem dam for AiV-1 by RT-qPCR. The persistence of infectious particles was evaluated using an integrated cell culture approach coupled with a quantitative molecular detection (ICC-RT-qPCR). In all, 85 (18.9%) water samples were positive for AiV-1 with viral loads ranging from 0.47 to 11.62 log₁₀ cp/L and a median of 4.97 log₁₀ cp/L, including 30/100 raw, 18/50 decanted, 14/50 flocculated, 9/100 treated, 1/50 tap, and 13/100 surface water samples. Of these, 15 (17.6%) samples contained infectious AiV-1 genotype A particles, including 5 raw, 4 decanted, 1 surface, 3 flocculated, and 2 treated water samples. Our data clearly suggest that persistence of infectious AiV-1 particles in environmental waters might represent a potential threat to public health. This study also indicates that the ICC-RT-qPCR is a practical tool for monitoring human waterborne viral risk in aquatic environments.

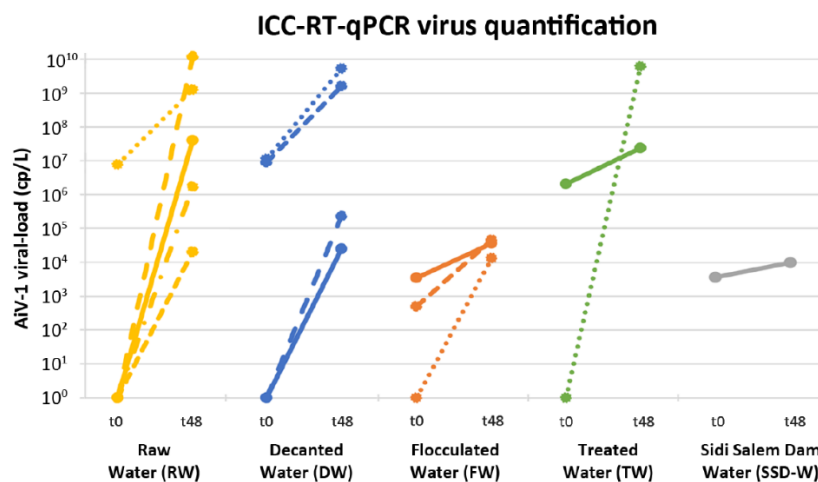


Fig. ICC-RT-qPCR virus quantification by water source

2/ Community-scale effluent monitoring of respiratory and enteric viruses from a nursing home and a wastewater treatment plant during the winter epidemic season

Abstract: The aim of this study was to evaluate whether community-level monitoring of respiratory and enteric viruses in wastewater can provide an accurate and comprehensive picture of local virus circulation. Wastewater samples were collected weekly at the inlet of the wastewater treatment plant (WWTP) and at the outlet of a nursing home (NH) in Pr cy-sous-Thil in Burgundy, France, during the 2022-2023 winter season. We searched for the main respiratory and enteric epidemic viruses: SARS-CoV-2, influenza, respiratory syncytial virus, rotavirus, sapovirus, norovirus, astrovirus and adenovirus. Samples were analyzed using real-time reverse transcription polymerase chain reaction-based methods. Among the three respiratory viruses, SARS-CoV-2 was the most frequently detected, with 66.7% of positive samples from the WWTP and 28.6% from the NH. Peaks of SARS-CoV-2 were consistent with the chronological incidence of infections recorded in the sentinel surveillance and

the nearby hospital databases. The number of positive samples was lower in the NH than in WWTP for the three respiratory viruses. Enteric viruses were frequently detected, most often sapovirus and norovirus genogroup II, accounting for 77.8% and ≈47.1% of positive samples in the WWTP and the NH, respectively. In conclusion, wastewater surveillance at both sites, using simple optimized methods, provided valuable information on the prevalence of respiratory and enteric infections in the local population and the NH population. It can be a valuable tool for monitoring viral circulation and may serve as a suitable early warning system for identifying both local outbreaks and the onset of epidemics.

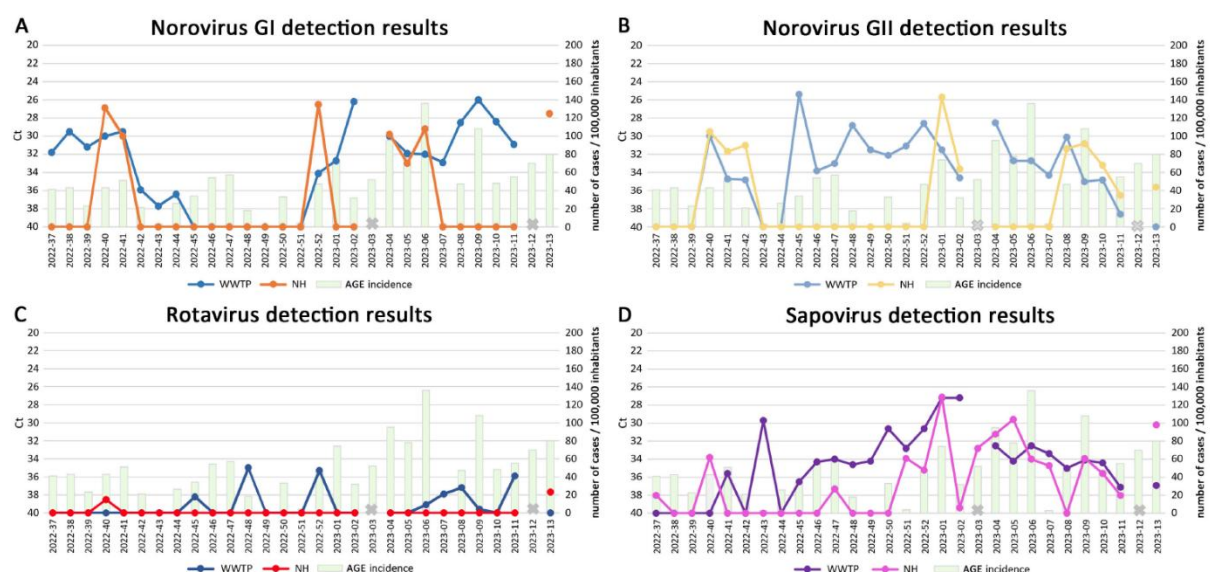


Fig. RT-PCR detection of enteric viruses in the two sites. Norovirus genogroups I (A) and II (B), rotavirus (C), and sapovirus (D) in the WWTP and in the nursing home. Astrovirus and adenovirus were not detected. The reference is the clinical acute gastroenteritis incidence per 100,000 inhabitants in Burgundy [acute gastroenteritis (AGE) incidence, light green].

3/ Comparison of four concentration methods of adenovirus, norovirus and rotavirus in tap water

Abstract: Human enteric viruses, as adenovirus (HAdV), norovirus (HuNoV) and rotavirus (RVA) are significant causes of gastroenteritis associated with consumption of contaminated water worldwide. Various methods have been described for their detection and monitoring in water. The aim of this study was to compare the performance of four conditions for concentrating HAdV, HuNoV and RVA from water matrices, in order to develop a single protocol that could simultaneously concentrate all target viruses from tap water. The tested conditions were based on the adsorption-elution using electronegative filters, in which we evaluated cation-coated filtration by $MgCl_2$ with or without acid rinse by H_2SO_4 and two elution buffers, namely NaOH and tris-glycine-beef extract. Genomic material was extracted and amplified by real-time PCR and real-time RT-PCR using commercial kits. Based on the statistical analysis of amplification results (cycles of quantification), the condition involving cationcoated filtration by $MgCl_2$ using electronegative filters with acid rinse by H_2SO_4 combined with NaOH elution allowed efficient recovery of both HAdV, HuNoV and RVA from tap water compared to the other conditions. These findings confirm the effectiveness of the approach used to monitor three major enteric viruses in tap water.

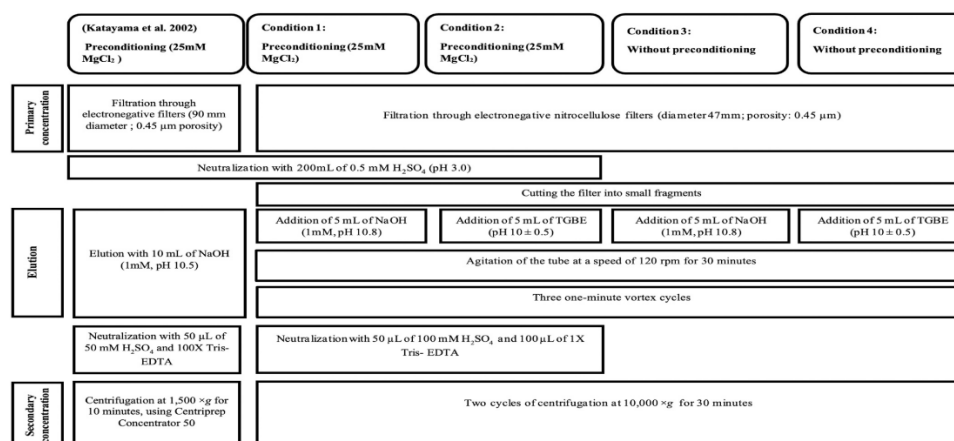


Fig. Protocols of the tested conditions for virus concentration from tap water samples spiked with HAdV, HuNoV-GII and RVA.

4/ Increased circulation of GII.17 noroviruses, six European countries and the United States, 2023 to 2024

Abstract: We report an increase in GII.17 norovirus outbreaks and sporadic infections of acute gastroenteritis in Austria, Germany, France, Ireland, the Netherlands, England and the United States during the 2023/24 season. A decrease in GII.4 coincided with GII.17 prevalence increasing to between 17% and 64% of all GII detections. Overall, 84% of the GII.17 strains clustered closely with strains first reported in Romania in 2021 and two new sub-lineages were identified. Norovirus surveillance and molecular characterization should be prioritized this winter.

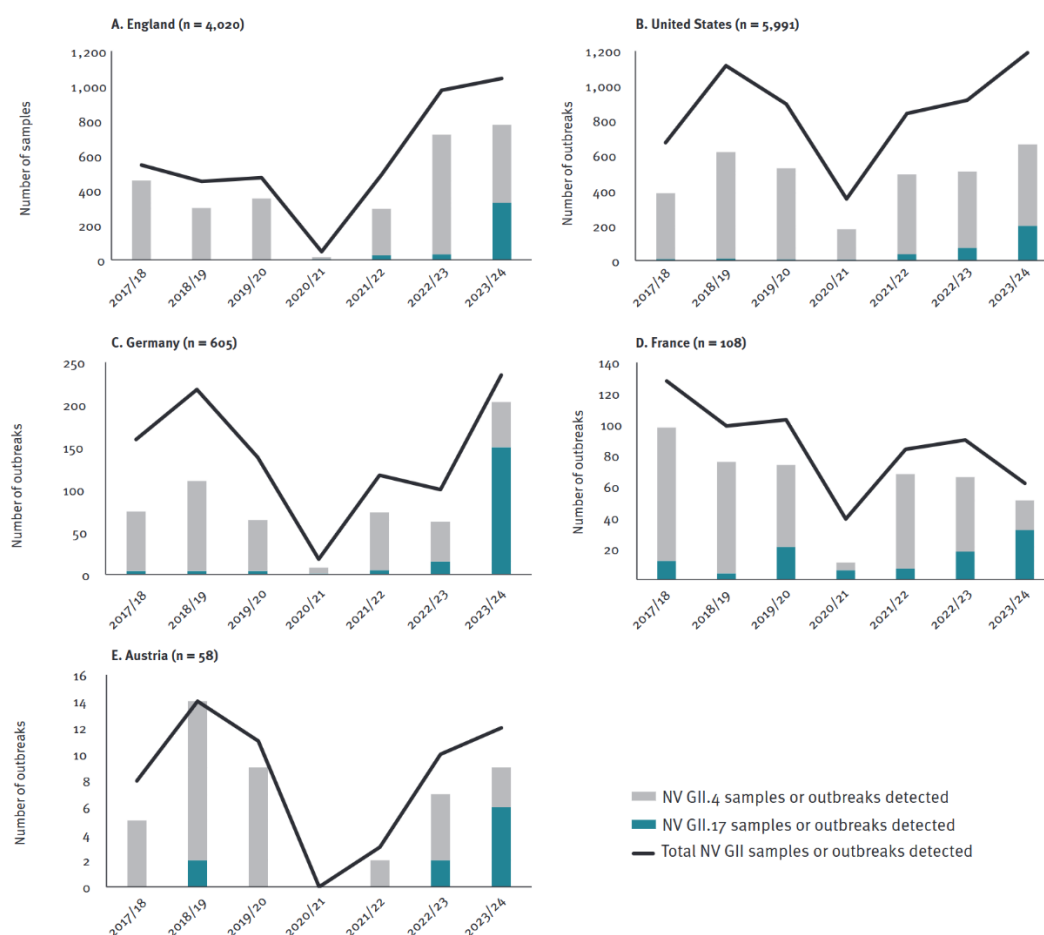


Fig. Trends of GII norovirus samples or outbreaks typed as genotype GII.17 or GII.4 by season, four European countries and the United States, 2017–2024 (n = 10,782)

6.2 Liste des publications et communications

6.2.1 Publications internationales

- C Manoha, M Marotel, L Thery, F Pez, AL Dequiedt, B Vouillon, E Gueneau, **A de Rougemont**. Multisite community-scale monitoring of respiratory and enteric viruses in the effluent of a nursing home and in the inlet of the local wastewater treatment plant. *Applied Environ Microbiol*, 2024;90(11):e0115824.
- N Elfellaki, S Berrouch, A Biary, S Goïta, H Rafi, H Lachkar, O Dehhani, **A de Rougemont**, T Bourlet, JE Hafid. Comparison of four concentration methods of adenovirus, norovirus and rotavirus in tap water. *J Virol Meth*, 2024;330:115013..
- K Sdiri-Loulizi, A Khachou, S Lemaire, JB Bour, S Ayouni, **J Kaplon**, N Sakly, M Aouni, **G Belliot**, **A de Rougemont**. Persistence of human Aichivirus infectivity from raw surface water to drinking water. *Applied Environ Microbiol*, 2025;91(1):e0118924
- P Chhabra, S Wong, S Niendorf, I Lederer, H Vennema, M Faber, A Nisavanh, S Jacobsen, R Williams, A Colgan, Z Yandle, P Garvey, H Al-Hello, **K Ambert-Balay**, L Barclay, M de Graaf, C Celma, J Breuer, J Vinjé, A Douglas. Increased circulation of GII.17 noroviruses, six European countries and the United States, 2023 to 2024. *Euro Surveill*, 2024;29(39):2400625.

6.2.2 Communications internationales

- N Elfellaki, S Berrouch, A Biary, S Goïta, H Rafi, H Lachkar, O Dehhani, **A de Rougemont**, T Bourlet, JE Hafid. Evaluation of Adenovirus, Norovirus and Rotavirus concentration method from tap water. *17th National & 5th International Days of Microbiology – Global Health, Shared Responsibility. Hammamet, Tunisia, November 2024. Présentation orale.*

6.2.3 Communications nationales

- L Poisson-Arnaud, M Derose, D Costa, L Lemée, **A de Rougemont**, M Gueudin. Évaluation des performances du panel multiplex LiquidArray® Gastrointestinal (Bruker). *44ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, décembre 2024. Affiche.*
- D Patarot, **L Thery**, **J Kaplon**, **A de Rougemont**, **K Ambert-Balay**. Évaluation des performances du kit GI-Viral PLUS ELITE sur InGenius®. *44ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, décembre 2024. Affiche.*
- P Mas, **ME Estienney**, E Lesniewska, V Urbain, **A de Rougemont**, **G Belliot**, S Guyot. Influence of bacterial-virus binding on bacterial and viral resistance to food decontamination processes. *Forum des Jeunes Chercheurs, Dijon, juin 2024. Affiche.*

6.2.4 Conférences

- **A de Rougemont**. Actualités sur les virus des gastro-entérites. *Journée Normande de Microbiologie Clinique (JNM), Fédération Normande Microbiologie Infectiologie Hygiène (FéNoMiH), Deauville, 24 mai 2024.*