

**Centre National de Référence**  
***des virus des gastro-entérites***

**Dossier scientifique**

**2017 - 2021**

***Bilan d'activité***

***2012 - 2016***



# Résumé analytique

## I. L'ÉQUIPE DU CNR DES VIRUS DES GASTRO-ENTÉRITES

Le CNR des virus des gastro-entérites est localisé dans le laboratoire de virologie du CHU de Dijon. Il y bénéficie d'une autonomie administrative (UF spécifique) mais mutualise au sein du pôle de biologie locaux et équipements. Son responsable pour les années 2012 – 2016 était le professeur Pierre POTHIER. Il sera remplacé pour le prochain mandat par le Docteur Alexis de ROUGEMONT. Quatre biologistes (environ 2,9 ETP), 5 techniciens (4,7 ETP) et 1 secrétaire participent à l'activité de ce CNR.

## II. LES MISSIONS ET LE CONTEXTE

Le CNR a des missions d'expertise, de 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 ; nous disposons d'un vaccin uniquement pour le premier ; trois groupes de patients sont principalement concernés par ces infections, les enfants pour le rotavirus et les personnes âgées vivant en collectivités (EHPAD ? surtout) pour les norovirus et enfin les immunodéprimés. Ces infections surviennent régulièrement en période hivernale ou bien par épidémies brutales (cas groupés) lors de contaminations alimentaires ou hydriques.

## III. PRINCIPAUX RÉSULTATS DURANT LA PÉRIODE 2012-2016 ET LES OBJECTIFS DU CNR POUR 2017-2021

Dans ce contexte, le CNR des virus des gastro-entérites a concentré ses actions autour de 3 objectifs principaux :

- l'expertise virologique à apporter à la communauté médicale,
- la surveillance des gastro-entérites infantiles à rotavirus et
- les gastro-entérites épidémiques en EHPA.

### 1. Activités d'expertise virologique

- **évaluation des réactifs** : Afin de diffuser une information précise sur les trousse de diagnostic des infections à norovirus et à rotavirus, nous avons évalué la sensibilité et la spécificité des principaux réactifs par immunochromatographie. Nous avons fait de même pour les réactifs moléculaires. Les résultats nous permettent un conseil avisé aux collègues qui nous contactent.
- **investigations virologiques chez les immunodéprimés. Chez les enfants SCID** présentant un déficit immunitaire sévère ayant fait une **diarrhée chronique après vaccination Rotarix**. Mais aussi pour suivre les **infections à norovirus** chez un patient sous traitements immunosuppresseurs.

### 2. Gastroentérites infantiles à rotavirus

Les vaccins anti-rotavirus sont efficaces vis-à-vis des souches les plus répandues en Europe ; leur efficacité vis-à-vis des souches inhabituelles est plus incertaine. Afin de pouvoir apprécier l'impact de la vaccination sur l'évolution ou l'émergence des génotypes du rotavirus, le CNR a réalisé une surveillance moléculaire depuis plus de 10 saisons. Les principaux résultats sont : une **prédominance du génotype G1, une stabilisation du génotype G9, une variabilité cyclique des génotypes G2, G3 et G4, une grande variabilité géographique de tous ces génotypes**. Les points à vérifier pour les prochaines années sont l'éventuelle émergence du génotype G12 et la sélection du génotype G2P[4] sous l'effet de la pression vaccinale par le vaccin monovalent Rotarix™.

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

Le CNR des virus des gastro-entérites en collaboration avec SPF, les CIRE et les ARS réalise les investigations virologiques s'intégrant dans la prise en charge épidémiologique globale de ces épidémies. Les principaux résultats obtenus entre 2012-2016 montrent :

- les **norovirus GII.4** étaient les principaux responsables de ces épidémies jusqu'en 2015. **Ce génotype se caractérise par une étonnante capacité évolutive** avec l'apparition d'un nouveau variant à l'origine de nouvelles épidémies tous les 3 à 4 ans. **Nous avons observé l'émergence d'un nouveau variant (GII.4-2012/Sydney) durant la saison 2012-2013**. Ce variant a largement prédominé jusqu'en 2014-2015. Il a été supplanté, sans avoir totalement disparu, par un variant du **génotype GII.17 lors de la saison 2015-2016**.
- une étude prospective effectuée sur **sept années consécutives montre que les épidémies à norovirus représentent une charge importante pour les établissements de long séjour**. Les problèmes que posent les norovirus dans ces structures nécessiteraient d'être évaluée sur le plan médico-économique.

## IV. BILAN

Les travaux réalisés au CNR ont fait l'objet de **50 publications dans des journaux internationaux** à comité de lecture depuis 2012, 23 communications lors de conférences internationales et 33 conférences comme membre invité. **Du 17 au 20 mai 2015, nous avons également organisé à Dijon le sixième congrès européen sur les rotavirus (6th European Rotavirus Biology Meeting).**

# SOMMAIRE

<b>1. NOTE DE PRÉSENTATION ET ENGAGEMENTS.....</b>	<b>1</b>
1.1. LES GASTRO-ENTÉRITES VIRALES ET ENJEUX DE SANTÉ PUBLIQUE.....	1
1.2. MOTIVATION ET OBJECTIFS POUR LE MANDAT 2017 - 2021 .....	2
<b>2. DESCRIPTIF DES CAPACITÉS DU LABORATOIRE .....</b>	<b>3</b>
2.1. OBJECTIFS SPÉCIFIQUES DU CNR DES VIRUS DES GASTRO-ENTÉRITES.....	3
2.2. ORGANISATION PROPOSÉE POUR RÉPONDRE AU CAHIER DES CHARGES.....	3
2.2.1. Localisation des activités du CNR des virus des gastro-entérites.....	3
2.2.2. Fiche d'identité du CNR.....	3
2.3. LES MOYENS DU LABORATOIRE AFFECTÉS AU CNR DES VIRUS DES GASTRO-entérites .....	4
2.3.1. En matière de ressources humaines .....	4
2.3.1.1. L'équipe du CNR (2017-2021).....	4
2.3.1.2. Organisation du CNR .....	5
2.3.1.3. Organigramme du CNR et du service de microbiologie (2016).....	6
2.3.2. En matière d'équipement et de logistique .....	6
2.3.2.1. Les locaux .....	6
2.3.2.2. Les équipements .....	7
2.4. DESCRIPTIF DES THÉMATIQUES DE RECHERCHE DU LABORATOIRE.....	9
2.4.1. Études épidémiologiques.....	9
2.4.1.1. Épidémiologie des virus des gastro-entérites chez les animaux.....	9
2.4.1.2. Épidémiologie des virus des gastro-entérites en afrique.....	9
2.4.1.3. Épidémiologie des virus des gastro-entérites en france et en Europe.....	9
2.4.2. Norovirus et contaminations environnementales et alimentaires.....	10
2.4.3. Caractérisation de nouveaux virus dans les selles par métagénomique .....	11
2.4.4. Infections à rotavirus et à norovirus et antigènes de groupe sanguins.....	11
2.4.5. Mécanismes de migration des lymphocytes B vers la muqueuse intestinale après immunisation mucoale .....	11
2.4.6. Études technologiques et appliquées .....	11
2.5. CAPACITÉS TECHNIQUES DU LABORATOIRE .....	12
2.5.1. Techniques disponibles.....	12
2.5.1.1. LISTE DES TECHNIQUES DE RÉFÉRENCE DISPONIBLES.....	12
2.5.1.2. PRINCIPALES PROCÉDURES TECHNIQUES DISPONIBLES .....	12
2.5.1.3. TRANSFERT DES TECHNIQUES À D'AUTRES LABORATOIRES .....	13
2.5.2. Collection de souches, antigènes ou anticorps de référence .....	13
2.5.2.1. Description des collections .....	13
2.5.2.2. Conditions de stockage.....	15
2.5.2.3. Conditions de mise à disposition des souches, VLP et anticorps.....	15
2.5.3. Bases de données de séquences .....	15
<b>3. ACTIVITÉS SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES.....</b>	<b>16</b>
3.1. ACTIVITÉS D'EXPERTISE DU CNR .....	16
3.1.1. Évaluation des trousse de diagnostic des norovirus et rotavirus.....	16
3.1.1.1. Évaluation des trousse de diagnostic des norovirus .....	16
3.1.1.2. Évaluation des trousse de diagnostic des norovirus GII.17 .....	16
3.1.1.3. Évaluation des trousse de diagnostic de rotavirus.....	17
3.1.2. Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal. ....	17

3.1.3.	Investigations virologiques de cas sporadiques. ....	18
3.1.3.1.	Entérocolites ulcéro-nécrosantes .....	18
3.1.3.2.	Surveillance de patients immunodéprimés .....	18
3.1.3.3.	Investigations virologiques chez deux enfants diarrhéiques présentant un déficit immunitaire combiné sévère (SCID) .....	20
3.1.4.	Investigations virologiques des épidémies. ....	21
3.1.5.	Principales souches virales caractérisées (2012 – 1016). ....	22
3.1.6.	Conclusions sur les virus entériques caractérisés dans les épidémies .....	24
3.2.	CONSEILS AUX PROFESSIONNELS ET AUX AUTORITÉS DE SANTÉ .....	24
3.2.1.	Site web .....	24
3.2.2.	Activité de conseil .....	24
3.2.3.	Activité de formation .....	25
3.2.4.	Colloques et réunions scientifiques .....	25
3.3.	ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE .....	25
3.3.1.	Surveillance des gastro-entérites à rotavirus.....	25
3.3.1.1.	Réseau de partenaires et répartition géographique.....	25
3.3.1.2.	Bilan de la surveillance des saisons 2006-2015 .....	26
3.3.1.3.	Variations temporo-spatiales des combinaisons de génotypes G/P .....	31
3.3.1.4.	Conclusion .....	35
3.3.2.	Surveillance des cas groupés de gastro-entérites .....	35
3.3.2.1.	Réseau de partenaires et répartition géographique.....	35
3.3.2.2.	Provenance des échantillons .....	37
3.3.2.3.	Caractéristiques des épidémies (2012 – 2016) .....	37
3.3.3.	Contribution aux réseaux de surveillance internationaux .....	48
3.3.3.1.	Réseau internationaux « FBVE-NET », « NORONET » et « EUROROTANET » .....	48
3.3.3.2.	Réseaux avec les pays africains .....	48
3.3.3.3.	Autres collaborations internationales .....	49
3.4.	CONTRIBUTION À L'ALERTE .....	49
3.4.1.	Contact hebdomadaire avec sante public france (SPF) .....	49
3.4.2.	Procédures d'alerte de sante public france et des autres partenaires.....	49
3.4.2.1.	Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (ARS, laboratoires..) .....	49
3.4.2.2.	ARRIVÉE DE PRÉLÈVEMENTS SANS ANNONCE PRÉALABLE .....	50
3.4.3.	Description de l'infrastructure informatique d'alerte.....	50
3.4.3.1.	Transmission des données à santé publique france (SPF).....	50
3.4.3.2.	Anonymisation des prélèvements .....	50
4.	PUBLICATIONS EN LIEN AVEC LES ACTIVITÉS DU CNR (2012-2016) .....	51
4.1.	PUBLICATIONS NATIONALES .....	51
4.2.	PUBLICATIONS INTERNATIONALES .....	51
4.3.	COMMUNICATIONS NATIONALES .....	54
4.4.	COMMUNICATIONS INTERNATIONALES .....	54
4.5.	COMMUNICATIONS SUR INVITATION .....	56
5.	DESCRIPTION DES DÉMARCHES QUALITÉ ET GARANTIES MISES EN ŒUVRE AU SEIN DU LABORATOIRE .....	58
6.	DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE .....	59

<b>7. PROPOSITION DE PROGRAMME DE TRAVAIL QUINQUENNAL POUR LA PÉRIODE 2017 - 2021 .....</b>	<b>60</b>
<b>7.1. ACTIVITÉS D'EXPERTISE.....</b>	<b>60</b>
7.1.1. Réseaux de partenaires et collaborations.....	60
7.1.2. Développement de techniques .....	60
7.1.3. Mode de constitution, de stockage et mise à disposition des collections.....	61
7.1.4. Travaux d'évaluation de techniques .....	61
7.1.5. Projets de transferts de techniques vers d'autres laboratoires.....	62
7.1.6. Travaux de recherche en lien avec les missions du CNR virus des gastro-entérites ..	62
<b>7.2. ACTIVITÉ DE CONSEIL, FORMATION ET INFORMATION.....</b>	<b>63</b>
7.2.1. Activité de formation.....	63
7.2.2. Modalités de diffusion de l'information .....	63
7.2.3. Collaboration à des expertises auprès d'instances nationales ou internationales .....	63
<b>7.3. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE .....</b>	<b>64</b>
7.3.1. Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à rotavirus .....	64
7.3.2. Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à norovirus.....	64
<b>7.4. CONTRIBUTION À L'ALERTE.....</b>	<b>64</b>

## 2.4. DESCRIPTIF DES THÉMATIQUES DE RECHERCHE DU LABORATOIRE

### 2.4.1. Études épidémiologiques

**Objectifs :** 1) Mieux connaître la circulation des différents virus et souches virales dans la population.  
2) Détecter l'apparition de nouveaux génotypes ou variants pour chaque virus, voire anticiper leur émergence en France.

#### 2.4.1.1. Épidémiologie des virus des gastro-entérites chez les animaux

- **Objectifs :** Mieux connaître les virus entériques circulant chez les animaux afin de mieux détecter ces virus chez l'homme et mieux comprendre les mécanismes de transmission de l'animal à l'homme.
- **Publications significatives :**
  - **Diversity and zoonotic potential of rotaviruses in swine and cattle across Europe.** Midgley SE, Bányai K, Buesa J, Halaihel N, Hjulsager CK, Jakab F, Kaplon J, Larsen LE, Monini M, Poljšak-Prijatelj M, Pothier P, Ruggeri FM, Steyer A, Koopmans M, Böttiger B. *Vet Microbiol.* 2012; 156: 238-245.
  - **Impact of rotavirus vaccine on rotavirus genotypes and caliciviruses circulating in French cattle.** Kaplon J, Fremy C, Bernard S, Rehby L, Aho S, Pothier P, Ambert-Balay K. *Vaccine.* 2013; 31 (20) :2433-40.
  - **Distribution of G (VP7) and P (VP4) genotypes of group A bovine rotaviruses from Tunisian calves with diarrhoea.** Hassine-Zaafrane M, Ben Salem I, Sdiri-Loulizi K, Kaplon J, Bouslama L, Aouni Z, Sakly N, Pothier P, Aouni M, Ambert-Balay K. *J Appl Microbiol.* 2014 Jun;116(6):1387-95.
  - **Evidence for human norovirus infection of dogs in the UK.** Caddy SL, de Rougemont A, Emmott E, El-Attar L, Mitchell JA, Hollinshead M, Belliot G, Brownlie J, Le Pendu J, Goodfellow I. *J Clin Microbiol.* 2015 Jun;53(6):1873-83.

#### 2.4.1.2. Épidémiologie des virus des gastro-entérites en Afrique

- **Objectifs :** Outre l'intérêt local, la connaissance des différents virus, génotype ou variants circulant en Afrique, représente un intérêt pour la France et l'Europe compte tenu des flux migratoires existants.
- **Publications significatives :**
  - **Rotavirus surveillance in urban and rural areas of Niger, April 2010-March 2012.** Page AL, Jusot V, Mamaty AA, Adamou L, Kaplon J, Pothier P, Djibo A, Manzo ML, Toure B, Langendorf C, Collard JM, Grais RF. *Emerg Infect Dis.* 2014 Apr;20(4):573-80.
  - **Prevalence and Genetic Diversity of Enteric Viruses in Children with Diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso.** *PLoS One.* 2016 Apr 19;11(4):e0153652. doi: 10.1371/journal.pone.0153652. eCollection 2016.
  - **Prevalence and genetic diversity of norovirus infection in Tunisian children (2007-2010).** Hassine-Zaafrane M, Sdiri-Loulizi K, Kaplon J, Salem IB, Pothier P, Aouni M, Ambert-Balay K. *J Med Virol.* 2013; 85 (6): 1100-10.

#### 2.4.1.3. Épidémiologie des virus des gastro-entérites en France et en Europe

- **Objectifs généraux:**
  - 1) Suivre l'évolution des souches virales (norovirus et rotavirus), l'émergence éventuelle de nouvelles souches et interpréter nos résultats dans le contexte des réseaux européens et mondiaux.
  - 2) Mieux définir les caractéristiques des gastro-entérites virales communautaires et en institutions (EHPAD) en collaboration avec les épidémiologistes
- **Objectifs spécifiques :**
  - épidémiologie moléculaire des norovirus et évolution des souches.

- épidémiologie moléculaire des rotavirus, surveillance avant et pendant la vaccination au niveau européen.
  - épidémiologie des gastro-entérites virales en milieu gériatrique.
  - influence des facteurs climatiques sur la pathogénicité des norovirus.
  - études chez les immunodéprimés
- **Publications significatives :**
    - **Selection of a phylogenetically informative region of the norovirus genome for outbreak linkage.** Verhoef L, Williams KP, Kroneman A, Sobral B, van Pelt W, Koopmans M; on behalf of the Food-Borne Viruses in Europe Network. *Virus Genes*. 2012 Feb;44(1):8-18.
    - **Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012.** van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, Iritani N, Kroneman A, Vennema H, Vinjé J, White PA, Koopmans M; NoroNet. *Euro Surveill*. 2013 Jan 3;18 (1): 8-9.
    - **Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era?** de Graaf M, van Beek J, Vennema H, Podkolzin AT, Hewitt J, Bucardo F, Templeton K, Mans J, Nordgren J, Reuter G, Lynch M, Rasmussen LD, Iritani N, Chan MC, Martella V, Ambert-Balay K, Vinjé J, White PA, Koopmans MP. *Euro Surveill*. 2015 Jul 2;20(26).
    - **Major outbreak of gastroenteritis in Réunion Island in 2012: first identification of G12 rotavirus on the Island.** Caillère N, Vilain P, Brottet E, Kaplon J, Ambert-Balay K, Polycarpe D, Filleul L. *Euro Surveill*. 2013; 18: 20476 - Erratum in: *Euro Surveill*. 2013;18(23).
    - **de Rougemont A, Kaplon J, Fremy C, Aho S, Pothier P.** Clinical severity and molecular characteristics of circulating and emerging rotaviruses in young children attending hospital emergency departments in France French National Rotavirus Network. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22(8):737.e9-15.
    - **Absolute humidity influences the seasonal persistence and infectivity of human norovirus.** Colas de la Noue A, Estienney M, Aho S, Perrier-Cornet JM, de Rougemont A, Pothier P, Gervais P, Belliot G. *Appl Environ Microbiol*. 2014 : 80 (23), 7196-7205.

#### 2.4.2. Norovirus et contaminations environnementales et alimentaires

- **Objectifs :** L'environnement et les aliments sont des vecteurs des virus entériques. Nos recherches tentent :
  - 1) de déterminer l'importance de cette contamination afin de préciser le risque de contamination et,
  - 2) d'évaluer ou mettre au point des techniques de traitement adaptées aux différentes matrices.
- **Publications significatives :**
  - **Norovirus and Rotavirus Survival in Urine Collected from a Public Ecological Sanitation System in Ouagadougou, Burkina Faso.** Makaya JM, Kaplon J, Fremy C, Barro N, Aho S, Pothier P, Belliot G, Traoré AS. *Food Environ Virol*. 2015 Mar;7(1):41-8.
  - **Detection and genotyping of group A rotaviruses isolated from sewage samples in Monastir, Tunisia between April 2007 and April 2010.** Hassine-Zaafrane M, Kaplon J, Ben Salem I, Sdiri-Loulizi K, Sakly N, Pothier P, Aouni M, Ambert-Balay K. *J Appl Microbiol*. 2015 Nov; 119 (5):1443-53.
  - **Deciphering the Diversities of Astroviruses and Noroviruses in Wastewater Treatment Plant Effluents by a High-Throughput Sequencing Method.** Prevost B, Lucas FS, Ambert-Balay K, Pothier P, Moulin L, Wurtzer S. *Appl Environ Microbiol*. 2015 Oct;81(20):7215-22
  - **Adhesion of human pathogenic enteric viruses and surrogate viruses to insert and vegetal food surfaces.** Deboosere N, Pinon A, Gaudrelier Y, Delobel A, Merle G, Perelle S, Temmam S, Loutreul J, Morin T, Estienney M, Belliot G, Pothier P, Gantzer C, Vialette M. *Food Microbiol*. 2012. 32 (1): 48-56.
  - **Potential of Pulsed Light to Inactivate Bacteriophage MS2 in Simple Liquid Medium and on Complex Foodstuffs.** Belliot G, Loutreul J, Estienney M, Cazeaux C, Nicorescu I, Aho S, Gervais P, Orange N, Pothier P, Morin T. *Food Environ Virol*. 2013, 5:176–179.

### 2.4.3. Caractérisation de nouveaux virus dans les selles par métagénomique

- **Objectifs** : Outre l'intérêt phylogénétique, cette recherche nous a permis de caractériser de nouveaux virus ou génotypes viraux dont la pathogénicité reste à définir pour la plupart.
- **Publications significatives** :
  - **Divergent gyroviruses in the feces of Tunisian children.** Gia Phan T, Phung Vo N, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, Pothier P, Ambert-Balay K, Deng X, Delwart E. *Virology*. 2013 Nov;446 (1-2) : 346-8.
  - **New parvovirus in child with unexplained diarrhea, Tunisia.** Phan TG, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, Ambert-Balay K, Pothier P, Deng X, Delwart E. *Emerg Infect Dis*. 2014 Nov;20(11):1911-3.
  - **A new gyrovirus in human feces.** Phan TG, da Costa AC, Zhang W, Pothier P, Ambert-Balay K, Deng X, Delwart E. *Virus Genes*. 2015 Aug;51(1):132-5.
  - **A diverse group of small circular ssDNA viral genomes in human and non-human primate stools.** Ng TFF, Zhang W, Sachsenroder J, Kondov NO, da-Costa AC, Vega E, Holtz LR, Wu G, Wang D, Stine OC, Antonio M, Mulvaney US, Muench MO, Deng X, Ambert-Balay K, Pothier P, Vinje J, Delwart E. *Virus Evolution* 2015 1 (1): vev017.

### 2.4.4. Infections à rotavirus et à norovirus et antigènes de groupe sanguins

- **Objectifs** : Comprendre les mécanismes d'attachement et d'internalisation de ces deux virus et en évaluer les conséquences sur leur épidémiologie.
- **Publications significatives** :
  - **Noroviruses and histo-blood groups: the impact of common host genetic polymorphisms on virus transmission and evolution.** Ruvoën-Clouet N, Belliot G, Le Pendu J. *Rev Med Virol*. 2013; 23 (6):355-66.
  - **Relationship between GII.3 norovirus infections and blood group antigens in young children in Tunisia.** Ayouni S, Estienney M, Sdiri-Loulizi K, Ambert-Balay K, de Rougemont A, Aho S, Hammami S, Aouni M, Guédiche MN, Pothier P, Belliot G. *Clin Microbiol Infect*. 2015 Sep;21(9):874.e1-8.
  - **Rotavirus P[8] Infections in Persons with Secretor and Nonsecretor Phenotypes, Tunisia.** Ayouni S, Sdiri-Loulizi K, de Rougemont A, Estienney M, Ambert-Balay K, Aho S, Hamami S, Aouni M, Neji-Guediche M, Pothier P, Belliot G. *Emerg Infect Dis*. 2015 Nov;21 (11):2055-8.

### 2.4.5. Mécanismes de migration des lymphocytes B vers la muqueuse intestinale après immunisation mucosale

- **Objectifs** : Déterminer les mécanismes moléculaires et cellulaires qui orientent la circulation des cellules immunitaires effectrices vers la muqueuse intestinale.
- **Publications significatives** :
  - **Intrarectal immunization and IgA antibody-secreting cell homing to the small intestine.** Agnello D, Denimal D, Lavaux A, Blondeau-Germe L, Lu B, Gerard NP, Gerard C, Pothier P. *J Immunol*. 2013 ;190 (9): 4836-47.

### 2.4.6. Études technologiques et appliquées

- **Objectifs** : 1) évaluer les tests de détection mis sur le marché et 2) développer de nouvelles techniques en collaboration avec des industriels ou des équipes académiques ayant des compétences complémentaires aux nôtres.
- **Publications significatives** :
  - **Diagnostic accuracy of seven commercial assays for rapid detection of group A Rotavirus antigens.** Kaplon J, Fremy C, Pillet S, Mendes Martins L, Ambert-Balay K, Aho SL, Pothier P. *J Clin Microbiol*. 2015 Nov;53(11):3670-3
  - **Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of norovirus in faecal samples.** Ambert-Balay K, Pothier P. *J Clin Virol*. 2013; 56 (3): 194-198.
  - **Evaluation of immunochromatographic tests for the rapid detection of the emerging GII.17 norovirus in stool samples, January 2016.** Théry L, Bidalot M, Pothier P, Ambert-Balay K. *Euro Surveill*. 2016;21(4).
  - **Virus-like particles as virus substitutes to design artificial virus-recognition nanomaterials.** Sykora S, Cumbo A, Belliot G, Pothier P, Arnal C, Dudal Y, Corvini PF, Shahgaldian P. *Chem Commun (Camb)*. 2015 Feb 11;51(12):2256-8.

## 2.5. CAPACITÉS TECHNIQUES DU LABORATOIRE

### 2.5.1. Techniques disponibles

#### 2.5.1.1. Liste des techniques de référence disponibles

Nous disposons de toutes les techniques de **biologie moléculaire (PCR en point final, PCR en temps réel et séquençage)** permettant le diagnostic et la caractérisation génotypique des norovirus, sapovirus, rotavirus du groupe A, adénovirus, astrovirus, virus Aichi, bocavirus, virus de l'hépatite A, CMV et Coronavirus. Les analyses des séquences virales sont réalisées à l'aide de logiciels tels que « Codon Code Aligner » et la suite « Bionumerics » avec une base de données continuellement mise à jour où est enregistré toutes les souches caractérisées dans le cadre du réseau européen ainsi que la base de données GenBank.

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

#### 2.5.1.2. Principales procédures techniques disponibles

- détection des adénovirus par PCR en temps réel
- détection des virus Aichi par RT-PCR en point final
- détection des astrovirus par RT-PCR en temps réel
- détection des bocavirus par PCR en temps réel

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

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

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

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

### 2.5.2.1. Description des collections

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

#### Collection de souches ou prélèvements

- notre collection de **virus capable de se multiplier en culture** comprend :
  - rotavirus bovin (souche RF); simien (souche SA11), humain (souches Wa et DS-1).
  - parechovirus type 1 et type 2
  - virus Aichi A et C
  - astrovirus type 4 et type 8
  - norovirus murin
- notre **collection de souches** parfaitement caractérisées est importante. Elle comprend la plupart des génotypes connus de **rotavirus**, **norovirus** (plus de 1000 souches de chaque) et la plus importante collection de souches de **virus Aichi**. Nous fournissons en virus de référence plusieurs laboratoires en Europe et dans le monde dont les CDC aux États-Unis.
- cette biothèque comprend également plusieurs souches d'**astrovirus**, de **sapovirus** et d'**adénovirus** représentatifs de la diversité de sérotypes et de génotypes de ces virus.
- par ailleurs, nous disposons d'une collection de virus isolés à partir de selles bovines. Il s'agit de **rotavirus et de norovirus bovins** de différents génotypes. Ces souches sont particulièrement utiles pour prouver l'origine bovine par comparaisons génétique de certains virus isolés chez l'homme.

→ **au total**, notre collection comprend la plupart des génotypes de norovirus et de rotavirus détectés chez l'homme et une grande variété de souches de sapovirus, d'astrovirus, d'adénovirus et de virus Aichi. Cette collection nous permet **l'évaluation des nouveaux réactifs** et la fourniture de **contrôles externes** aux laboratoires français souhaitant développer ces diagnostics.

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

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

Les norovirus humains ne se multiplient pas sur cellules immortalisées, rendant ainsi très difficiles leur concentration et leur purification. Pour les souches d'intérêt qui risqueraient de ne plus être disponibles après épuisement du prélèvement biologique, nous avons donc développé un programme de **clonage de leur génome dans des vecteurs plasmidiques** afin de pérenniser leur information génétique.

**Pour disposer des antigènes correspondant** aux différents génotypes des norovirus, nous avons entrepris un programme d'expression du gène codant la protéine de capsid afin de fabriquer des **pseudo-particules recombinantes de norovirus (VLP)**. Ce programme a été conçu en concertation avec d'autres équipes internationales (notamment le NIH) afin de potentialiser nos capacités de production, mais en gardant la pleine propriété de certains génotypes clés pour nos collaborations avec les industriels du domaine. Aujourd'hui, nous disposons de 17 VLP correspondant aux principaux norovirus humains (3 ont été produites au cours de l'année 2016) ainsi que d'autres souches de virus entériques :

##### **- VLP disponibles au laboratoire :**

- ✓ norovirus de génogroupe I : GI.1, GI.2 et GI.3 ;
- ✓ norovirus de génogroupe II: GII.3 (souche SW4-Tunisie), GII.4, GII.6 et GII.12 et GII.17 (ancien et nouveau variants Kawasaki308 et 323). Pour le génotype GII.4 nous disposons des VLP correspondant aux variants : Bristol, US95/96, FarmingtonHill/2002, Hunter/2004, Yerseke/2006a, DenHaag/2006b, Osaka/2007, Apeldoorn/2008, NewOrleans/2010 et Sydney/2012 (souche Dijon).
- ✓ norovirus GIV.1
- ✓ sapovirus GI.2 et GII.1
- ✓ bufavirus GI

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

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

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

- nos prélèvements sont répartis en aliquotes : cryotubes de 1,8ml. Ils sont « anonymisés » et identifiés par numéro unique. Ils sont classés et répertoriés en fonction du ou des virus présents. Conservés à -40°C ou -80°C
- les plasmides norovirus sont conservés à -20°C dans de l'eau pure Milli-Q (Millipore®). Les bactéries transformées correspondantes sont entreposées à -80°C dans du glycérol.
- les baculovirus recombinants permettant la production de pseudo-particules sont tous répertoriés puis stockés à +4°C (usage à court et moyen terme) et à -80°C (stockage à long terme)

#### **2.5.2.3. Conditions de mise à disposition des souches, VLP et anticorps**

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

#### **2.5.3. Bases de données de séquences**

Toutes les séquences d'intérêt sont partagées avec nos collègues des réseaux « Noronet » pour ce qui concerne les norovirus et « EuroRotaNet » pour les rotavirus. Nous avons mis en commun plusieurs centaines de séquences virales qui ont permis de suivre l'évolution de ces virus, notamment les norovirus et d'affiner leur classification.

### 3. ACTIVITÉS SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES

#### 3.1. ACTIVITÉS D'EXPERTISE DU CNR

##### 3.1.1. Évaluation des trousse de diagnostic des norovirus et rotavirus

###### 3.1.1.1. Évaluation des trousse de diagnostic des norovirus

- Nous avons publié en 2013 dans *Journal of Clinical Virology* l'évaluation de plusieurs trousse de diagnostic par immunochromatographie (Tableau 1 ci-dessous).

**Tableau 1 :** La sensibilité de cinq tests par immunochromatographie est évaluée sur un panel de génogroupes et génotypes GI, GII et GII.4 reflétant la distribution épidémiologique constatée en France par notre CNR. Globalement : la **spécificité** des 5 trousse est équivalente, proche de 100%. La **sensibilité est très faible pour les norovirus du génogroupe I**, Pour la détection des norovirus du génogroupe II et plus particulièrement du génotype GII.4, elle **varie de 59 à 78%** (*J. Clin. Virol.* 2013; 56; 194-198)

	RidaQuick Norovirus *	Actim Noro *	Norotop * (ou Immunoquick) **	SD BioLine Norovirus *	immunoCard STAT Norovirus *
	Sensibilité (%)	Sensibilité (%)	Sensibilité (%)	Sensibilité (%)	Sensibilité (%)
<b>Génogroupe I</b>	<b>17%</b>	<b>43%</b>	<b>52%</b>	<b>23%</b>	<b>26%</b>
<b>Génogroupe II</b>	<b>64%</b>	<b>64%</b>	<b>50%</b>	<b>54%</b>	<b>39%</b>
<b>GI.4</b>	<b>78%</b>	<b>73%</b>	<b>61%</b>	<b>67%</b>	<b>59%</b>

\* *RidaQuick Norovirus* (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany), *Actim Noro* (Medix Biochemica, Kauniainen, Finland), *Norotop* (ALL.DIAG SA, Strasbourg, France), *SD Bioline norovirus* (Standard Diagnostics, Inc., Kyonggi-do, Korea) et *ImmunoCardSTAT Norovirus* (Meridian Bioscience Europe, Nice, France)

\*\**Norotop = Immunoquick Norovirus* (Biosynex S.A., Strasbourg, France)

En 2013, nous avons également évalué les **trousse moléculaires de diagnostic (RT-PCR en temps réel)** ainsi que des réactifs pour contrôle interne :

###### **Trousse de diagnostic**

- G-DiaNota (Diagenode) pour détecter en PCR temps réel les norovirus I/II et les rotavirus.
- trousse Ridagene norovirus I et II de chez R-Biopharm.
- kit R-Gene temps réel noro-sapo Argène-Biomérieux
- trousse gastropanel I de chez Ceeram, pour la détection en temps réel multiplex des norovirus I/II, rotavirus, adénovirus, astrovirus.
- trousse norovirus de chez Ceeram, pour la détection des norovirus I et II.

###### **Contrôles internes**

- évaluation contrôle interne PAW 109 (Applied Biosystems)
- évaluation contrôle interne Simplexa (Focus Diagnostics)

###### 3.1.1.2. Évaluation des trousse de diagnostic des norovirus GII.17

Les norovirus GII.17 sont devenus le génotype majeur en Asie en 2014/2015 (*Euro Surveill.* 2015; 20(26)) et risquaient de le devenir en Europe. Nous avons donc évalué contre ce GII.17 les réactifs de diagnostic des norovirus par immunochromatographie disponibles en Europe (*Euro Surveill.* 2016, 21(4)). Les résultats sont présentés dans le tableau 2, ci-dessous.

**Tableau 2 :** Les 7 trousse de diagnostic évaluées sont capables de détecter les norovirus GII.17 mais avec une sensibilité différente selon les titres de la suspension de virus dans les selles. Certaines trousse nécessitent d'être améliorées pour pouvoir être utilisées en routine puisque cette nouvelle souche GII.17 semble devenir la principale souche responsable des épidémies hivernales (résultats de la saison 2015-2016).

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

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

### 3.1.1.3. Évaluation des trousse de diagnostic de rotavirus

Nous avons publié en novembre 2015 (*J. Kaplon et al. J Clin Microbiol, 2015, 53 : 3670-3673*) l'évaluation de sept trousse de diagnostic par immunochromatographie sélectionnées parmi celles répondant aux appels d'offre des hôpitaux. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 3.

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

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

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

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

- par ailleurs, nous avons **collaboré avec l'ANSM pour l'élaboration des recommandations** encadrant cette pratique.

**Tableau 3 :** Performances diagnostiques des tests immunochromatographiques destinés à la détection rapide des antigènes des rotavirus du groupe A dans les selles. Les tests évalués ont été réalisés en parallèle sur une collection de 253 selles collectées en 2014 au cours du pic épidémique à rotavirus. Parmi les 253 échantillons de cette collection, un rotavirus a été détecté dans 110 échantillons (43,5%) par la technique de référence (RT-PCR en temps réel). Le génotypage G et P des souches de rotavirus détectées indique que les souches de rotavirus G9P[8] (34,6%) et G1P[8] (33,6%) prédominent.

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

### 3.1.3. Investigations virologiques de cas sporadiques.

#### 3.1.3.1. Entérocolites ulcéro-nécrosantes

Entre 2012 et avril 2016, nous avons exploré 15 « épidémies » d'entérocolites ulcéro-nécrosantes (70 nouveau-nés) :

- la recherche de virus entériques était négative pour 11 d'entre elles (40 nouveau-nés) survenues entre 2012 et 2016.
- en 2014 : pour une des deux épidémies, nous avons retrouvé un rotavirus chez 2 nouveau-nés sur les 7 prélevés.
- en 2015 : pour 2 des 3 épidémies étudiées nous avons retrouvé un rotavirus (respectivement 1 nouveau-né sur les 8 analysés et 3 nouveau-nés sur les 6 analysés).
- en 2016 : Une des trois épidémies étudiées était positive pour un adénovirus de type 3 combiné à un Paréchovirus (2 nouveau-nés sur les 9 analysés)

#### 3.1.3.2. Surveillance de patients immunodéprimés

- En collaboration avec les services de transplantations de l'hôpital Necker (AP-HP), nous avons montré **l'importance du norovirus dans les diarrhées chroniques survenant chez l'immunodéprimé** (*Transplantation. 2011 ; 92 :61-9*). Cette activité s'est poursuivie durant les années 2012 à 2015 avec la participation de **44 centres**.

Entre janvier 2012 et décembre 2015 nous avons reçu **1442 prélèvements** provenant de 44 hôpitaux suivant des transplantés. Cela représente **le suivi de 1355 patients** pour lesquels nous avons reçu au moins 1 selle. Au total, **460 patients (34%) avaient au moins une selle positive** pour un des virus entériques recherchés. Un **norovirus** était retrouvé chez 264 patients soit **dans 19,5% des diarrhées**, venaient ensuite les adénovirus (7%), les sapovirus (3,5%) et les rotavirus (3%). Pour la grande majorité des infections (87%), un seul virus était isolé ; les infections

multiples étaient rares. Pour ce qui concerne les norovirus, le principal génotype isolé était le norovirus GII.4 et le variant correspondait avec celui isolé dans la population générale. Ainsi, à partir de la saison 2012/2013 le variant 2012 devenait prédominant, comme dans la population générale.

**Sur l'ensemble de l'année 2015 nous avons reçu 316 selles (279 patients).** Pour 250 patients nous avons reçu un seul prélèvement (73 étaient positifs pour au moins un virus). Pour 29 patients, nous avons reçu plusieurs prélèvements (2 à 4) et nous avons trouvé au moins 1 prélèvement positif pour 19 patients. Au total, 92 patients sur les 279 étaient infectés par au moins un virus entérique, **soit 33% des patients. Les norovirus seuls (11 cas) ou associés avec un autre virus entérique sont impliqués chez 41 patients soit 14,7% des patients.** Il s'agit en grande majorité du génogroupe GII (97%) et **principalement du génotype GII.4 (52,6%).** Cette prédominance des norovirus de génogroupe II correspond à celle observée dans la population générale. Mais, à la différence de la population générale **nous n'avons pas constaté en décembre 2015 l'émergence du nouveau génotype GII.17, les premiers isoléments sont survenus en février 2016.**

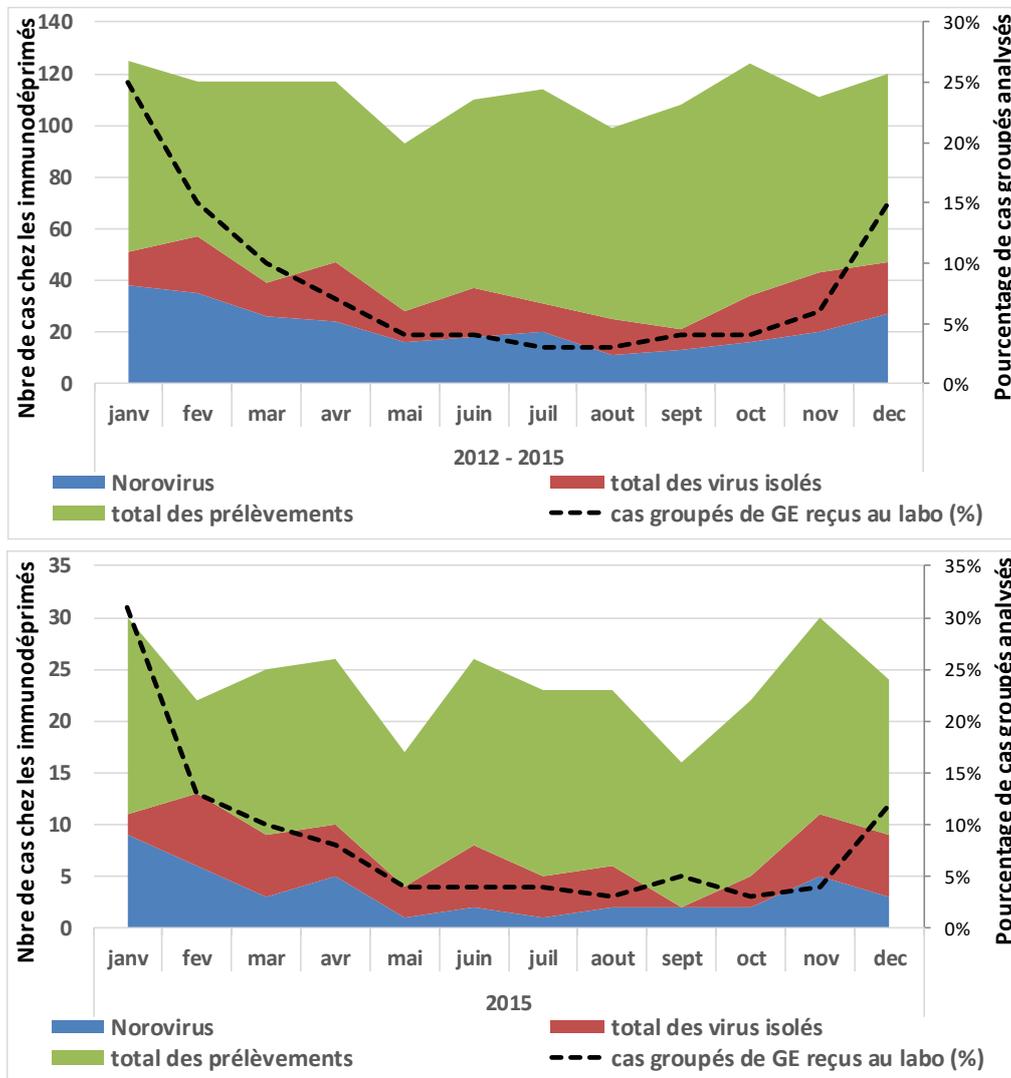
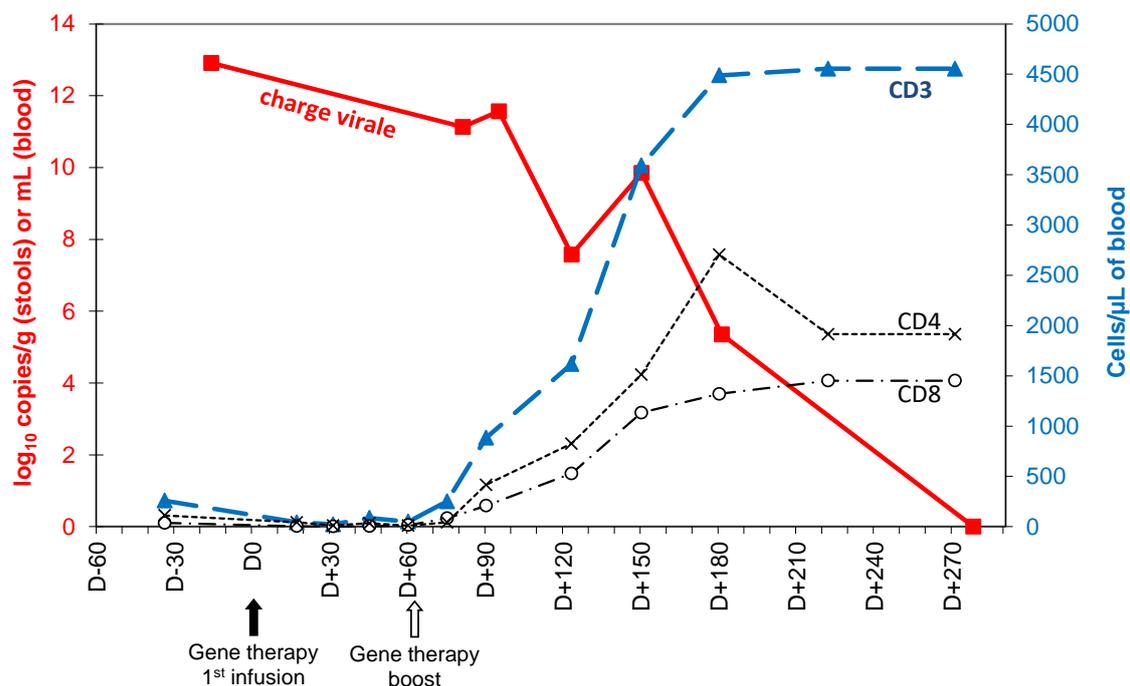


Figure 1 : **a** : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des 1522 patients immunodéprimés suivis (1 prélèvement/patient) entre janvier 2012 et décembre 2015. **b** : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des 279 patients immunodéprimés suivis (1 prélèvement/patient) entre janvier 2015 et décembre 2015. Pour comparaison, la répartition (%) des cas groupés de gastro-entérites investigués au CNR (courbe pointillée noire) durant l'année 2015 (a) ou la période 2012-2015 (b)

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

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



**Figure 2 :** La surveillance de la charge virale dans les fèces (■) et dans le sang (★) a montré une diminution du nombre de copies de génome du virus parallèlement à la reconstitution immunologique mesurée par ailleurs par le nombre de lymphocytes CD3 (▲) dans le sang (Figure ci-dessus pour le premier enfant SCID lié à l'X)

### 3.1.4. Investigations virologiques des épidémies.

- Dans la quasi-totalité des épidémies, l'alerte a été effectuée par SPF (anciennement InVS), les CIRE ou les délégations territoriales des ARS concernées. Les prélèvements ont été transmis par des laboratoires publics ou privés, ou directement par l'établissement concerné par l'épidémie. L'acheminement a été effectué par voie postale dans la plupart des cas ; beaucoup plus rarement – lorsque le nombre de prélèvements le justifiait - par un transporteur agréé ayant une convention avec le CNR (société TSE, Lyon).
- En 2015, nous avons expertisé **225 épidémies dont 198 étaient positives** pour un virus entérique soit **88%** (pour 86,4% d'entre elles un norovirus était retrouvé dans les prélèvements de selles seul ou associé à un autre virus).

Si on analyse les **27 épidémies « négatives » (11,8%)**, on constate que pour 10 d'entre elles nous n'avions qu'un seul prélèvement. Quoiqu'il en soit, 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 5).

- Entre 2012 et avril 2016, Nous avons expertisé 1298 épidémies et détecté un virus pour 1098 d'entre elles soit **84,6%**. On a retrouvé un norovirus seul ou associé à d'autres virus pour 89,9% de ces épidémies positives.

**Tableau 4 : Prélèvements analysés en 2015 : 758 ; soit par épidémie moy. : 3,2 +/- 1,8 ; médiane : 2.**

- **Épidémies positives (198) :**
  - prélèvements reçus : 691 ; soit par épidémie : moyenne : 3,5 +/- 2,4 ; médiane : 3.
  - prélèvements positifs : 514 ; moyenne : 2,6 / épidémie +/- 1,8 ; médiane : 1.
- **Épidémies négatives (27) :**
  - prélèvements reçus : 67 : en moyenne : 2,5 +/- 1,6 par épidémie et médiane : 2/épidémie.

Épidémies année = nombre	Virus	Noro	Sapo	Rota	Adéno	Astro	Aichi	Entéro	Agent inconnu
2012 = 338	Monoinfections : 266	237	5	20	4	0	0	0	59 (17,5%)
	Infections mixtes: 13	13	4	6	4	2	2	1	
2013 = 304	Monoinfections : 254	232	3	9	7	3	0	0	38 (12,5%)
	Infections mixtes: 12	7	8	2	5	4	3	1	
2014 = 242	Monoinfections : 174	156	5	6	3	3	0	1	57 (23,6%)
	Infections mixtes : 11	11	6	7	5	2	1	0	
2015 = 225	Monoinfections : 179	<b>152</b>	<b>6</b>	<b>15</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>27 (11,8%)</b>
	Infections mixtes : 19	<b>19</b>	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	
2016 (janvier à avril) = 189	Monoinfections : 159	<b>149</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>19 (10,1%)</b>
	Infections mixtes : 11	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	

\* : Pour 4 épidémies de 2015, les prélèvements reçus étaient non conformes et n'ont pu être analysés. Ces épidémies n'ont pas été comptabilisées.

**Tableau 5 :** Nombre de prélèvements positifs en fonction du nombre de prélèvements reçus. Pour 104 des 198 épidémies positives, le nombre de prélèvements positifs correspondait exactement au nombre de prélèvements reçus au laboratoire du CNR. Cette proportion voisine à celle observée les années précédentes : 52,5% (2015) contre 58,5% (2014), 60,9% (2013) et 49,5% (2012) et 55,5% pour l'ensemble de la période 2012-2015.

		Nombre de prélèvements analysés											Total	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	17		
Nombre de prélèvements positifs	0	10	6	5	2	3	0	1						27
	1	33	16	11	2	1					1			64
	2		19	13	2	4	1				1			40
	3			26	13	7		1						47
	4				10	7	3							20
	5					12	1	1	2	2				18
	6						2	2				1		5
	7							2			1			3
	8										1			1
Total		43	41	55	29	34	7	7	2	2	4	1	225	

### 3.1.5. Principales souches virales caractérisées (2012 – 2016).

- **Norovirus :**

- 2012 – 2016 : Nous avons caractérisé 1069 souches de norovirus dans 987 épidémies positives ( $\geq 1$  norovirus). Les résultats sont présentés dans le tableau 4. Les **norovirus du génogroupe II (GGII) représentent 87,6% des norovirus caractérisés** durant cette période et sont toujours largement majoritaires.
- 2015–2016 : 353 souches de norovirus pour 331 épidémies  $\geq 1$  norovirus. GG II : 90%
- **Place des génotypes GII.4** dans la responsabilité des épidémies : ce génotype est très majoritaire entre 2012 et 2015 (72% des GG II). Cette prédominance était déjà observée avant 2012 avec l'apparition de nouveaux variants remplaçant les précédents. Ainsi, sont apparus successivement les variants 2002, 2004 puis les deux variants 2006a et 2006b et finalement le variant 2009 (ou New Orleans). En 2012, le variant 2009 a prédominé de janvier à mars (saison hivernale 2011-2012), mais il a été remplacé durant l'hiver 2012-2013 par le variant 2012 (ou Sydney). Ce dernier a été majoritaire jusqu'en 2015 soit sous une forme homogène quant à sa capsid et sa polymérase, soit en associant une capsid 2012 et une polymérase différente (GII.4 2004/2012, GII.4 2009/2012, GII.e/2012) (Tableau 6).
- **Les autres génotypes, GII.6, GII.7/II.6, GII.7 et GII17.** Les génotypes GII.6, GII.7/II.6, GII.7 sont très proches et peuvent être relativement fréquents selon les saisons. Ce fut le cas en 2012 (environ 10% des souches de norovirus caractérisées) et en 2014 (13,4%).
- **Le génotype GII.17.** Ce génotype a été détecté ponctuellement en 2013, 2014 et début 2015, mais son émergence en France n'a été constatée seulement en décembre 2015 alors qu'il est prédominant en Asie depuis 2014 - 2015. Son émergence en France et en Europe cette saison pourrait en faire le **prochain génotype majeur à la place des norovirus de génotype GII.4** (voir chapitre activité de surveillance – surveillance des cas groupés de gastro-entérites).

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

Norovirus	2012			2013			2014			2015			2016		
	GI	GI	%	GI	GI	%									
GI non typable	9		3,5%	4		1,5%	12		6,2%	4		2,1%	1		0,6%
GI.1							1		0,5%				3		1,9%
GI.2							6		3,1%	5		2,6%			
GI.3	7		2,7%	9		3,4%	8		4,1%	8		4,1%	1		0,6%
GI.4	5		1,9%	3		1,1%	1		0,5%	2		1,0%	1		0,6%
GI.b/I.4				1		0,4%	1		0,5%						
GI.5										3		1,6%	2		1,3%
GI.6	5		1,9%				1		0,5%	1		0,5%			
GI.b/I.6	4		1,5%	10		3,8%	1		0,5%	4		2,1%			
GI.7	3		1,2%												
GI.8				1		0,4%	1		0,5%						
GI.9				2		0,8%									
GI.e				1		0,4%									
GI.f							2		1,0%						
GI non typable		8	3,1%		8	3,1%		10	5,2%		3	1,6%		3	1,9%
GI.1		1	0,4%								3	1,6%		1	0,6%
GI.g/II.1		9	3,5%		2	0,8%		7	3,6%		14	7,3%		1	0,6%
GI.c/II.1					1	0,4%		1	0,5%						
GI.2		2	0,8%		6	2,3%		5	2,6%		8	4,1%		1	0,6%
GI.e/II.2								2	1,0%		8	4,1%		1	0,6%
GI.4 2012/II.2								1	0,5%						
GI.3		3	1,2%					2	1,0%					2	1,3%
GI.21/II.3		1	0,4%		3	1,1%		2	1,0%		2	1,0%		1	0,6%
GI.22/II.5					1	0,4%									
GI.4 2009		91	35,0%		3	1,1%		4	2,1%						
GI.4 2004/2012														4	2,5%
GI.4 2009/2012					32	12,2%		25	12,9%		47	24,4%		7	4,4%
GI.4 2012		88	33,8%		152	58,0%		70	36,1%		47	24,4%		20	12,5%
GI.e/2012											2	1,0%		1	0,6%
GI.5					1	0,4%									
GI.6		9	3,5%		12	4,6%		26	13,4%		3	1,6%		1	0,6%
GI.7/II.6		6	2,3%		1	0,4%		1	0,5%						
GI.7		8	3,1%		2	0,8%								1	0,6%
GI.8					1	0,4%									
GI.12											1	0,5%			
GI.13		1	0,4%								1	0,5%			
GI.21/II.13											1	0,5%			
GI.14					3	1,1%					1	0,5%		1	0,6%
GI.16														1	0,6%
GI.17					1	0,4%		3	1,5%		22	11,4%		104	65,0%
GI.21								1	0,5%						
GI.22 pol														2	1,3%
GI.g					2	0,8%					2	1,0%			
GI.1											1	0,5%			
<b>total</b>	33 (13%)	227 (87%)		31 (12%)	231 (88%)		34 (18%)	160 (82%)		27 (14%)	166 (86%)		8 (5%)	152 (95%)	

- **Autres virus détectés :**

- **rotavirus** : **94 souches** retrouvées dans 53 épidémies. Principaux génotypes par ordre de fréquence : G1P[8] ; G9P[8] ; G2P[4] et G3P[8]
- **sapovirus** **52 souches** principalement de **génogroupe GI.2**
- **adénovirus** : **44 souches**: principalement de type 40/41 et types 1 et 2
- **astrovirus** : 22 souches principalement de type 5, 2 et 3
- **Aichi virus** : 14 souches retrouvées dans 15 épidémies dont **10 d'origine alimentaire (huîtres)** et **4 d'origine hydrique**

### **3.1.6. Conclusions sur les virus entériques caractérisés dans les épidémies**

1. Les norovirus représentent la majorité des virus isolés à partir des selles analysées dans le cadre d'une investigation de cas groupés de gastro-entérites.
2. Il s'agit essentiellement du génogroupe II.
3. Les variants du génotype GII.4 sont prédominants et se succédaient selon un cycle de 2 à 3 années. Durant cette période de surveillance, le variant GII.4 2009 (ou New Orleans) a été remplacé par le variant GII.4 2012 (ou Sydney) à partir de la saison hivernale 2012 – 2013. L'émergence de ce nouveau variant explique probablement l'augmentation du nombre des épidémies analysées durant les années 2012 et 2013 (saison hivernale 2012 – 2013).
4. L'hiver 2015 – 2016 a été marqué par l'apparition du norovirus GII.17. Cette émergence a été relativement tardive en France puisque ce génotype est apparu en France en décembre 2015 alors qu'il était largement prédominant la saison précédente en Asie.

## **3.2. CONSEILS AUX PROFESSIONNELS ET AUX AUTORITÉS DE SANTÉ**

### **3.2.1. Site web**

Il nous permet une présentation du CNR et de ses missions. Il détaille les différentes procédures : conditions de prélèvement des selles, de leur conservation et de leur acheminement au CNR, les virus recherchés au CNR. Il est continuellement mis à jour afin d'être un de nos moyens de communication et d'information. Lien web : <http://www.cnr-ve.org>

### **3.2.2. Activité de conseil**

- **Haut Conseil Santé Public** : Le CNR des virus des gastro-entérites répond à la demande des autorités lorsque le sujet concerne son domaine de compétence. A ce titre, nous avons participé au **groupe de travail sur la vaccination rotavirus** jusqu'au rapport terminal finalisé au quatrième trimestre 2013. Nous nous sommes de nouveau réunis le 26 mars 2015 pour prendre position sur la recommandation de la vaccination rotavirus suite au rapport de pharmacovigilance et la position du Comité de Transparence.
- **Académie de Pharmacie** : Présentation à un groupe de travail de l'Académie de Pharmacie le 20 janvier 2014 sur les risques virologiques lors du transfert de flore pour les infections à Clostridium difficile.
- **ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament)** : intervention lors de la réunion du 10 février 2015 sur « le bilan virologique lors des transferts de flore fécale ».

- Comme par le passé, le CNR des virus des gastro-entérites apporte son aide ou ses conseils aux établissements publics, aux établissements de soins ou d'hébergement (publics ou privés), aux administrations qui lui en font la demande.
- Sous certaines conditions, nos conseils peuvent être dispensés aux entreprises privées.

### 3.2.3. Activité de formation

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

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

#### Stagiaires accueillis en 2014 et 2015 :

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

### 3.2.4. Colloques et réunions scientifiques

#### • Organisation de conférence, meeting et autres réunions :

Nous avons organisé le « **6th European Rotavirus Biology Meeting** » du 17 au 20 mai 2015 à **Dijon**. Cette conférence a réuni les spécialistes européens travaillant sur les rotavirus, mais également des chercheurs venus du Japon, d'Afrique et d'Amérique (Etats-Unis et Amérique du Sud). Site web : <https://www.etouches.com/ehome/103516>.

#### • Participations à des colloques sur invitation en France.

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

#### • Participation à des jurys de thèse à l'étranger :

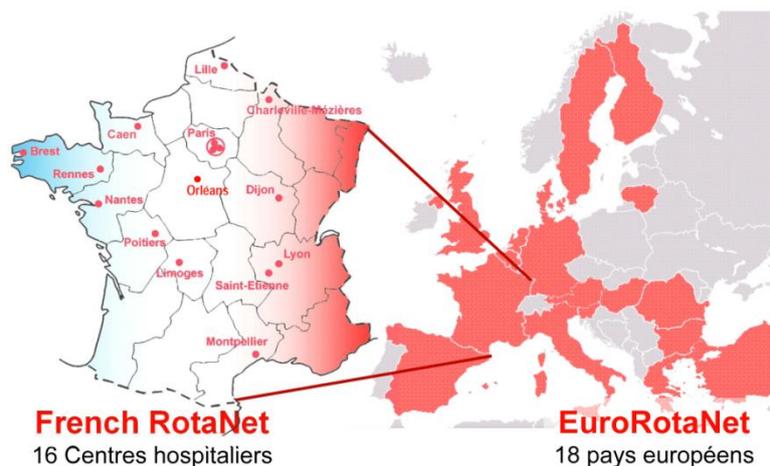
1. Maria HEMMING : rapporteur de la thèse et « *oponent* » lors de la soutenance à l'Université de Tampere en Finlande, le 28 mai 2014. Titre de la thèse : "Rotavirus Infections in Children, Clinical features and effects of large scale prevention by rotavirus vaccination". Directeur de la thèse: Dr.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

## 3.3. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE

### 3.3.1. Surveillance des gastro-entérites à rotavirus

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

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



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

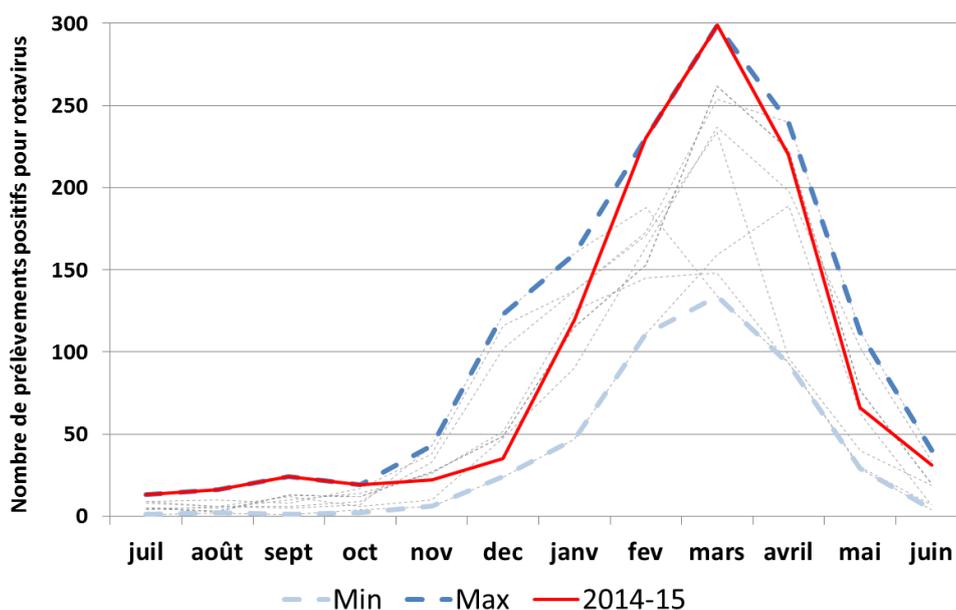
### 3.3.1.2. Bilan de la surveillance des saisons 2006-2015

Seize centres participent à cette étude depuis 2006 et **13 centres ont envoyé des prélèvements durant la saison 2014-2015**. Tous les prélèvements parvenus ont été analysés.

Au total, nous avons reçu et analysé **1187 prélèvements durant la saison 2014-2015 (soit 8042 souches de rotavirus « génotypées » entre 2006 et 2015)**.

#### 3.3.1.2.1. Distribution saisonnière des épidémies à rotavirus

Les infections à rotavirus sont saisonnières et surviennent durant les mois d'hiver. Cependant les résultats de notre étude européenne (réseau EuroRotaNet) montrent un gradient Sud-Nord et Ouest-Est avec un pic d'infections plus précoce en Espagne (décembre à février) et plus tardif (avril-mai) dans les pays du nord et de l'est de l'Europe. **En France, le pic des infections de la saison 2014-2015 est apparu en mars et les trois mois durant lesquels il y avait le plus de prélèvements positifs étaient février-mars-avril**. Ce fut également le cas la saison dernière et c'est aussi ce que l'on observe sur les résultats compilés des saisons 2006 à 2015 (figure 4).



**Figure 4 :** Distribution temporelle des infections à rotavirus pour la saison 2014-15 comparée aux maximums et minimums des saisons de 2006 à 2014.

Globalement il y a peu de différence d'une année à l'autre puisque le pic des infections a lieu en mars 7 saisons sur 9 de 2008 à 2015, les autres ayant eu lieu en février pour la saison 2007-08 et en avril pour 2006-07. Les mois les plus importants sont février à avril pour 6 saisons (2006-07, 2009-10 et de 2011 à 2015) et janvier à mars pour les 3 autres (2007-08, 2008-09 et 2010-11).

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

- **Résultats obtenus en France (figures 5) :**

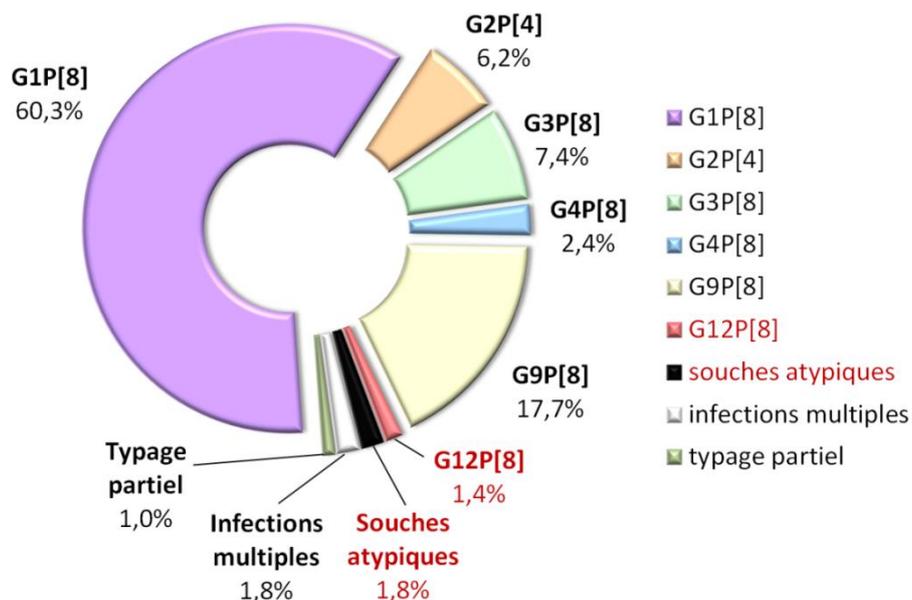
**Bilan 2006-2015 :** Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2013-2014 est de **8019 souches de rotavirus** totalement ou partiellement caractérisées (figure 6a et tableau 4). Les six principales combinaisons de génotypes G/P (>1%) ont été durant ces neuf années : **G1P[8] (60,3%)** suivie de **G9P[8] (17,7%)**, cumulant à elles seules **78,0% des souches détectées**, puis **G2P[4] (6,2%)** et **G3P[8] (7,4%)**. Les autres combinaisons d'importance significative étaient **G4P[8] (2,4%)** et **G12P[8] (1,4%)**. Ainsi, les quatre combinaisons génotypiques classiques (G1P[8], G2P[4], G3P[8] et G4P[8]) représentaient environ 77,4% des souches « génotypées ». Le génotype **G9P[8] représente le deuxième génotype** en terme de fréquence (17,7%), sa fréquence fluctuant d'une année sur l'autre (figure 8).

Les **génotypes ou combinaisons atypiques** (incluant notamment des associations de génotypes G et P classiques : G1P[4], G2P[8], G3P[4], G4P[4] et G9P[4]) représentent **1,8%** et les infections mixtes 1,8%.

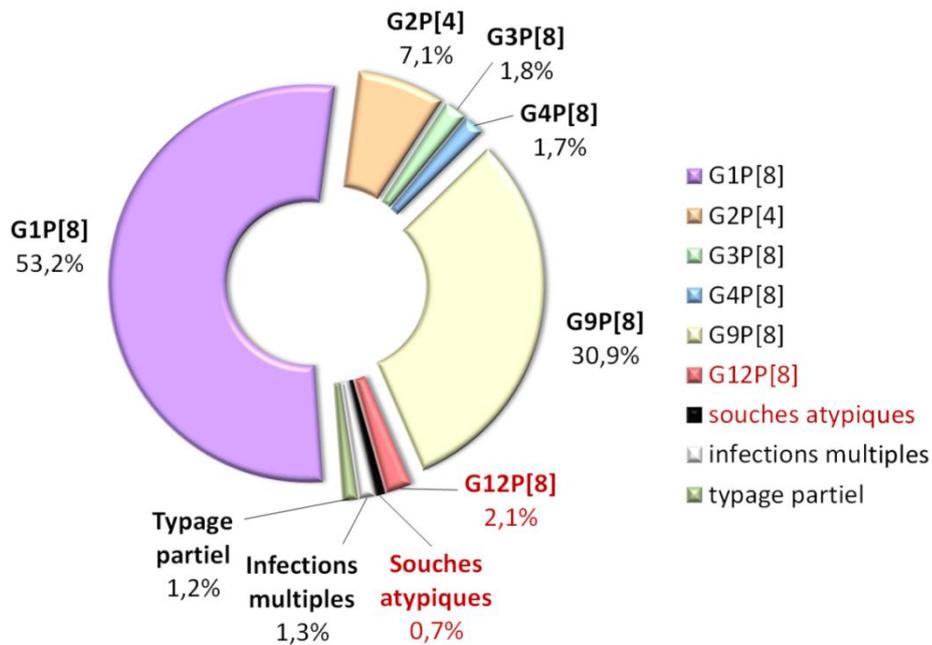
**Saison 2014-2015** (figure 5b et tableau 4):

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

- 1) Le génotype G1P[8] reste de loin le génotype le plus fréquemment détecté (53,2%).
- 2) Les autres génotypes importants sont :
  - a. G9P[8] (30,9%), ce génotype demeure le deuxième en terme de fréquence.
  - b. G3P[8] retrouve son niveau moyen en terme de fréquence (7,4% vs 6,2% sur la période 2006-2015).
- 3) G12P[8] reste présent depuis son émergence avec une fréquence de 2,1%.



**Figure 5a :** Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant l'ensemble de la surveillance 2006-2015 (8019 souches).



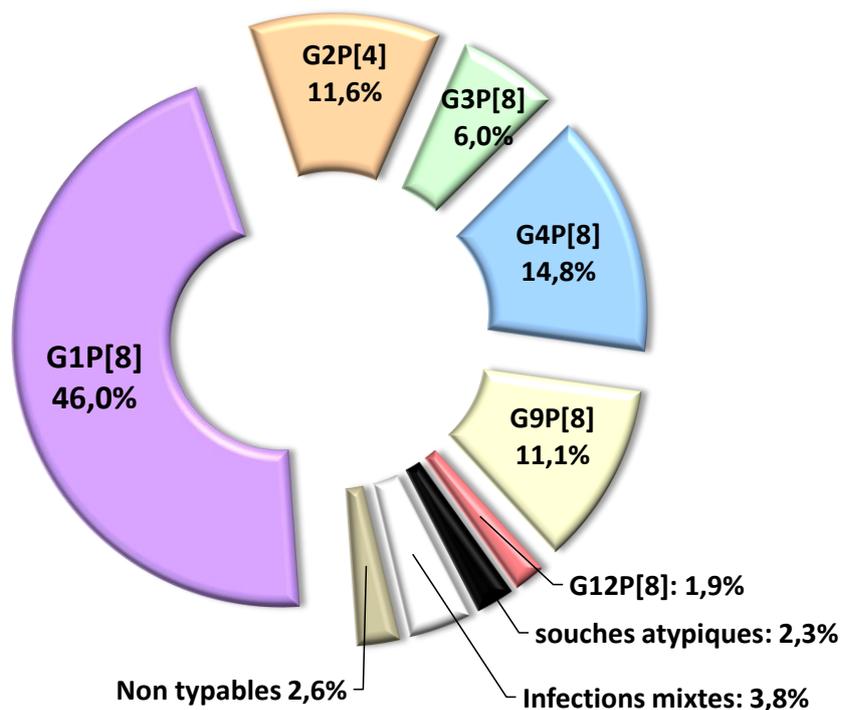
**Figure 5b** : Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant la saison 2014-2015 (1087 souches).

La persistance d'un certain nombre de souches non typables (1.2%) est liée à l'amélioration de nos méthodes de détection et ne reflète pas l'émergence de souches atypiques. La détection par PCR en temps réel, plus sensible, entraîne en effet une augmentation des prélèvements diagnostiqués positifs sans que l'on puisse caractériser plus en détail le rotavirus détecté par les techniques conventionnelles de biologie moléculaire car les charges virales sont généralement très faibles.

- **Les résultats obtenus en Europe, 2006-2012 (figure 6)**

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

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



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

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

L'analyse séparée des **génotypes G** (tableau 7 et figure 7a et 7b) montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France en 2014-2015 ont été **G6** (0,1%) et **G8** (0,2%). Aucun génotype G5, G8 ou G10 n'a été caractérisé durant la saison 2014-2015.

Le fait marquant de cette saison 2014-2015 est la **fréquence élevée des rotavirus de génotype G9** (348 prélèvements (31,4%)). Le **génotype G12** (23 prélèvements (2,1%)) semble désormais bien implanté et circule régulièrement en France depuis son émergence, après une saison 2013-14 plutôt « creuse » (7 prélèvements (0,6%)). Cette émergence du génotype G12P[8] a été observée dans toute l'Europe mais avec des différences selon les pays. L'Espagne est le pays où cette émergence a été la plus marquée avec une fréquence >60% dans la Pays Basque (figure 11b).

Les **génotypes P** (tableau 4 et figures 8a et 8b) sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** (globalement 91,9% et 91,3% en 2014-2015), alors que le génotype **P[4]** représente globalement 7,3% et 8,1% cette dernière saison.

Ce résultat concernant le génotype P[4] est à considérer dans le suivi des effets de la vaccination (en particulier avec le vaccin Rotarix® constitué d'une souche G1P[8] atténuée). Entre 2006 et 2015, les génotypes atypiques en France étaient représentés par **P[3], P[6], P[9] et P[14]** : 63 souches soit 0,8% des 7751 souches. Durant la saison 2014-2015 nous avons détecté les **génotypes P[6] (4 souches), P[3], P[9] et P[14] (1 souche chacun) soit 0,6% des souches.**

**Tableau 7 :** Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2015 et durant la saison 2014-2015.

	Nombre de souches de rotavirus génotypées		
	2006-2014 n=6655	2014-2015 n=1096	2006-2015 n=7751
<b>G genotypes<sup>a</sup></b>			
G1	4196 (63,1)	592 (54,0)	4788 (61,8)
G2	447 (6,7)	85 (7,8)	532 (6,9)
G3	649 (9,8)	24 (2,2)	673 (8,7)
G4	185 (2,8)	20 (1,8)	205 (2,6)
G6	15 (0,2)	1 (0,1)	16 (0,2)
G8	13 (0,2)	3 (0,3)	16 (0,2)
G9	1125 (16,9)	348 (31,8)	1473 (19,0)
G10	1 (<0,1)	0	1 (<0,1)
G12	93 (1,4)	23 (2,1)	116 (1,5)
<b>G type mixed infections</b>			
G1 + G2	11 (0,2)	7 (0,7)	18 (0,2)
G1 + G3	21 (0,3)	0	21 (0,3)
G1 + G4	8 (0,1)	0	8 (0,1)
G1 + G9	48 (0,7)	4 (0,4)	52 (0,7)
G2 + G3	1 (<0,1)	0	1 (<0,1)
G2 + G4	1 (<0,1)	0	1 (<0,1)
G2 + G9	2 (<0,1)	1 (<0,1)	3 (<0,1)
G3 + G4	2 (<0,1)	0	2 (<0,1)
G3 + G9	20 (0,3)	0	20 (0,3)
G4 + G9	3 (<0,1)	0	3 (<0,1)
<b>P genotypes<sup>a</sup></b>			
P[3]	2 (<0,1)	1 (0,1)	3 (<0,1)
P[4]	481 (7,2)	88 (8,0)	569 (7,3)
P[6]	42 (0,7)	4 (0,4)	46 (0,6)
P[8]	6138 (92,2)	993 (90,6)	7131 (92,0)
P[9]	5 (0,1)	1 (0,1)	6 (<0,1)
P[14]	7 (0,1)	1 (0,1)	8 (0,1)
<b>P type mixed infections</b>			
P[4] + P[8]	25 (0,3)	8 (0,8)	33 (0,4)

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

**La constance de la prévalence du génotype P[8] entre 2006 et 2015** est rassurante et doit être souligner s'agissant de l'efficacité de la vaccination puisque les deux vaccins commercialisés possèdent cette valence antigénique dans leur composition.

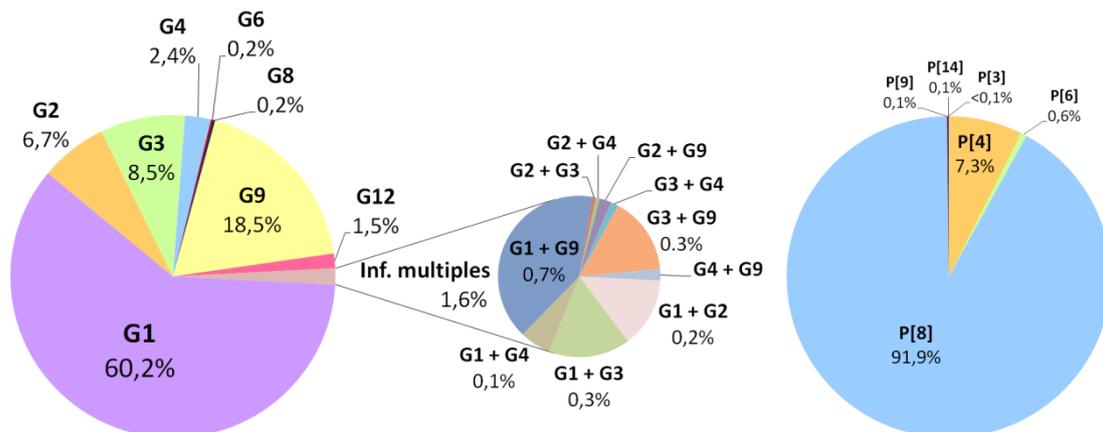


Figure 7a : Distribution des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2015.

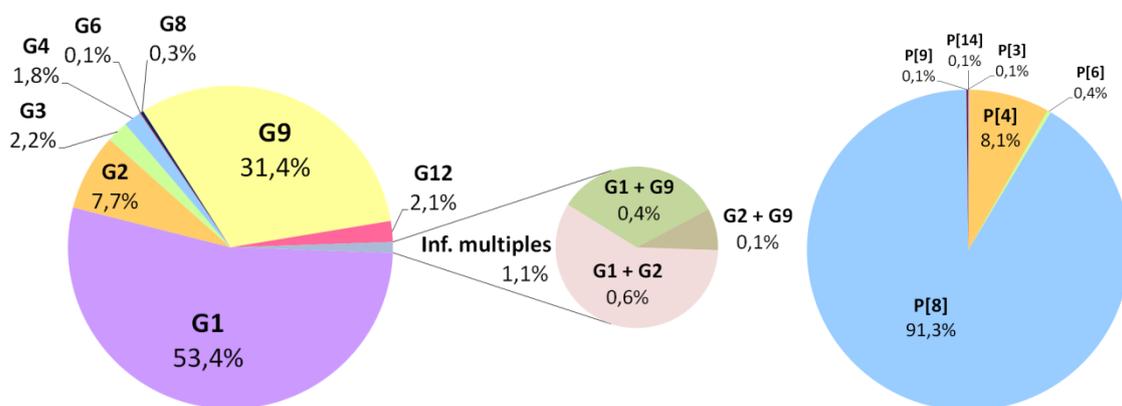


Figure 7b: Distribution des génotypes G et P détectés en France durant la saison 2014-2015.

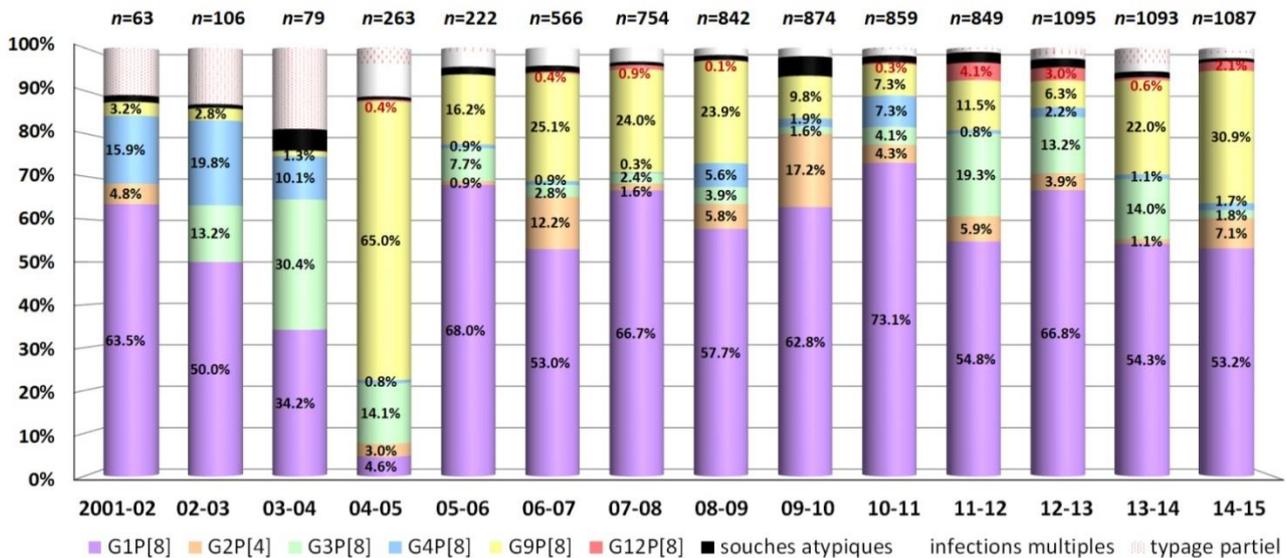
### 3.3.1.3. Variations temporo-spatiales des combinaisons de génotypes G/P

#### 3.3.1.3.1. Variations des génotypes G/P entre 2006-2014 (figure 8) :

- **Évolution des génotypes G/P « classiques »** : l'évolution des génotypes G/P durant cette période de surveillance est marquée par :
  1. La **prédominance du génotype G1P[8]** (entre 53,0% et 73,1% ; 53,2% en 2014-2015). Ce phénomène a été également observé dans les autres pays européens du réseau. Cette prévalence élevée et continue serait due à l'émergence régulière de nouveaux variants antigéniques sous l'effet de la pression immunitaire.
  2. **Génotype G9P[8]** : après sa brutale émergence en 2004-2005 (65,0%), sa fréquence diminuait régulièrement de 25,1% à 6,3% en 2012-2013. Sa réapparition à un taux élevé depuis 2 saisons (21,1% en 2013-2014 puis 30,9% en 2014-15) soulève des questions quant à sa circulation et son évolution. Il sera important de comparer nos résultats à ceux obtenus en Europe, l'émergence brutale observée en 2004-2005 avait été un phénomène observé sur tout le continent.
  3. **Génotype G12P[8]** : son émergence récente (4,2% en 2011-12 et 3,0% en 2012-2013) laissait penser qu'il deviendrait l'un des six génotypes importants en France. Après une saison 2013-2014 creuse (7 souches ; 0,6%), ce génotype a été détecté à une fréquence de 2,1% (23

souches ; 2,1%) en 2014-2015, confirmant la persistance de la circulation des rotavirus G12 en France.

4. Les autres génotypes **G2P[4], G3P[8] et G4P[8]** évoluent de façon cyclique selon les saisons : G2P[4] (entre 1,6% et 17,2%) ; G3P[8] (entre 1,6% et 19,3%) ; G4P[8] (entre 0,3% et 7,3%). Les différences avec le tableau 1 s'expliquent par le fait que ce dernier ne prend pas en compte les combinaisons de génotypes G et P.



**Figure 8 :** Évolution des combinaisons de génotypes G/P de rotavirus en France entre 2001 et 2015. La période 2001 à 2006 est une étude limitée. Sa présentation sur cette figure a pour but de montrer la brusque émergence du génotype G9 lors de la saison 2004-2005.

• **Génotypes ou combinaisons atypiques :**

- en dehors du génotype G12P[8], décrit précédemment dans les souches dites « classiques », **les génotypes atypiques** sont des combinaisons associant l'un des génotypes **G6, G8, G10, P[3], P[6], P[9] et P[14]**. **Sur l'ensemble de l'étude elles représentent 65 souches (0,8%) dont 7 (0,7%) en 2014-2015.** Parmi ces génotypes inhabituels, le génotype P[6] est le plus important (44 souches au total dont 4 en 2014-2015). Certaines de ces souches peuvent être d'origine animale.
- **les combinaisons atypiques**, par exemple G2 associé à P[8] ou G1, G3, G4, G9 ou G12 associé à P[4] représentent 0,9% des souches détectées de 2006 à 2015 et 0,1% sur la dernière saison (1 seule combinaison atypique durant la saison 2014-2015).

**3.3.1.3.2. Variabilité géographique des génotypes de rotavirus :**

Nous avons montré dans les précédents rapports qu'il existait **une variabilité géographique, selon les centres (figure 9)**. Nous retrouvons lors de cette saison 2014-2015 cette même variabilité géographique assez marquée. Elle concerne tous les génotypes, notamment le génotype G9P[8] responsables de >50% des cas dans certains centres géographiquement éloignés (Caen, Montpellier et Saint-Etienne). Le génotype G2P[4] est très variables d'un centre à l'autre, sa fréquence allant de 0% à Dijon à 19,0% à Orléans.

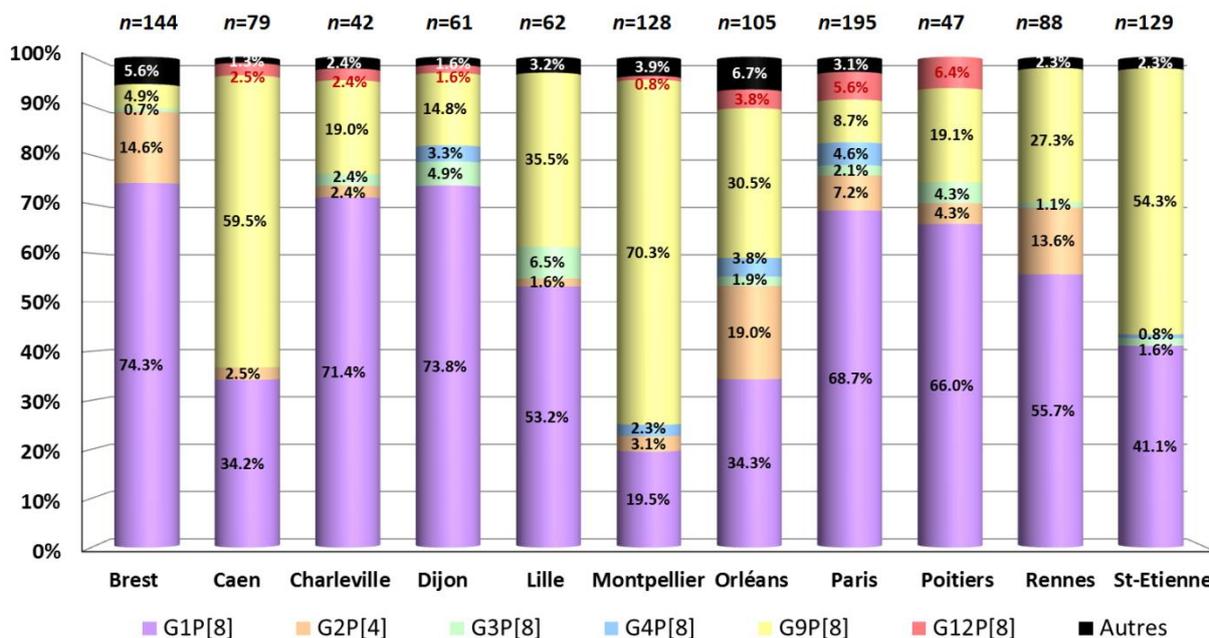


Figure 9 : Distribution des génotypes en France selon les centres durant la saison 2014-2015.

Pour le génotype G12P[8], quelques souches ont été détectées dans 7 centres (Caen, Charleville, Dijon, Montpellier, Orléans, Paris et Poitiers). La figure 10 montre que globalement le génotype G12P[8] circule dans tous les centres du réseau depuis son émergence.

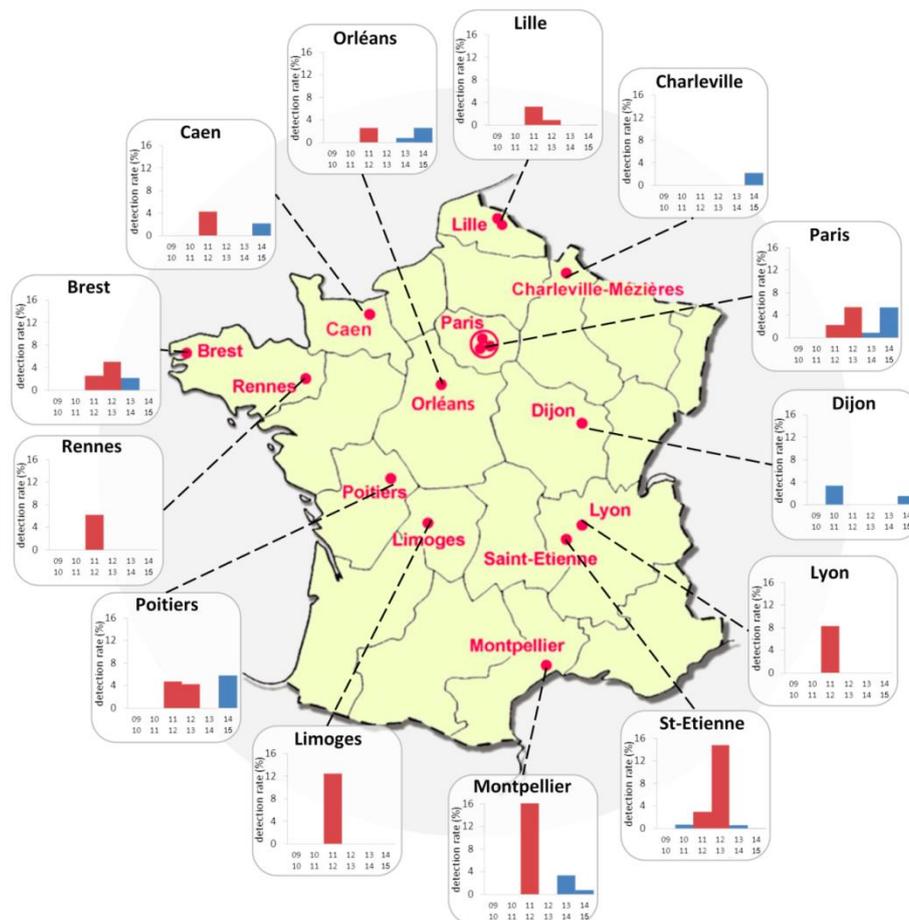
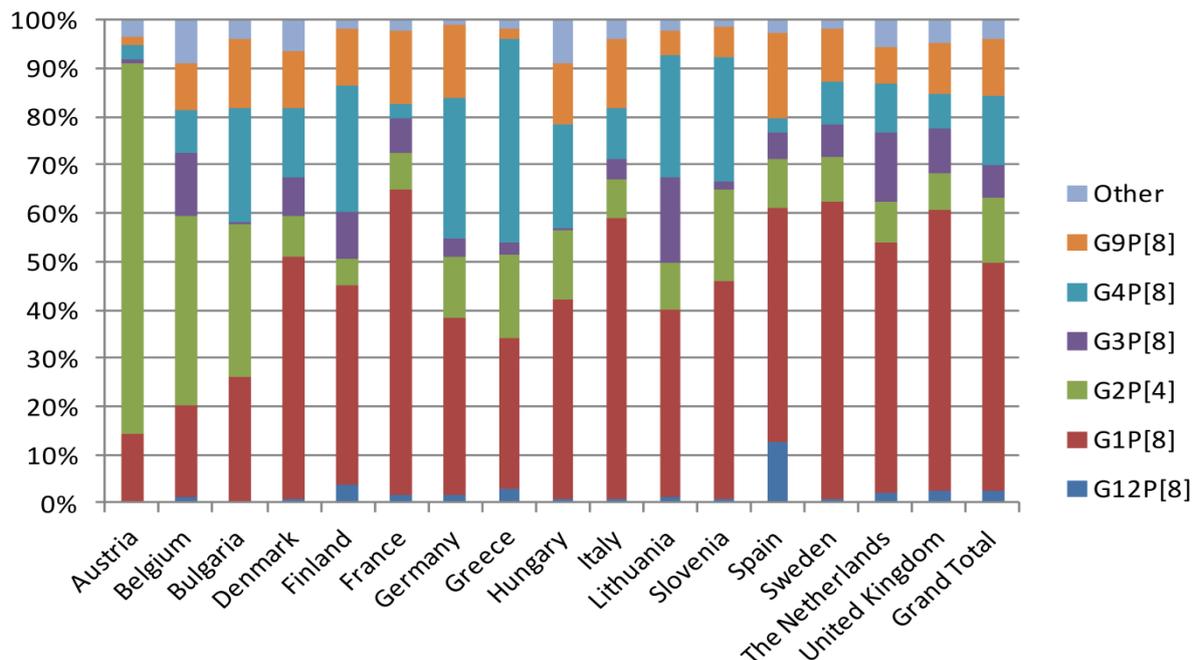
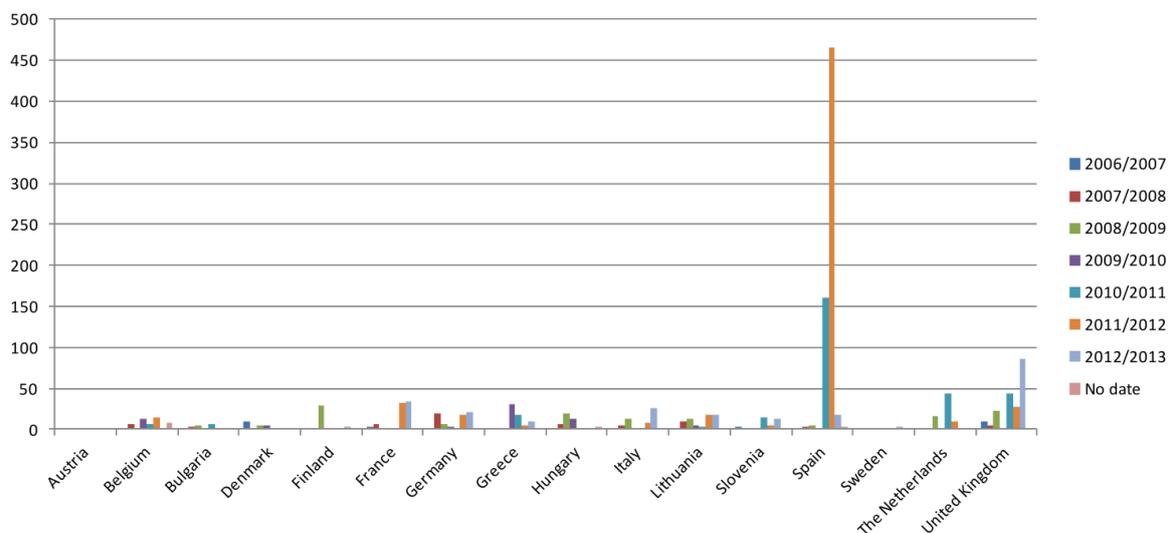


Figure 10 : Fréquences de détection du génotype G12P[8] en France selon les centres de 2009 à 2015 (en rouge : saisons d'émergence ; en bleu : saisons avant et après émergence)

La variabilité géographique en Europe dans les pays participant au réseau est également très marquée (figure 11a). Le génotype G1P[8] est prédominant sauf en Autriche, Belgique et Bulgarie. La fréquence du génotype G2P[4] varie beaucoup atteignant , elle est importante en Autriche, Belgique et Bulgarie. La vaccination est recommandée et remboursée depuis plusieurs années dans les deux premiers pays avec une excellente couverture vaccinale. Cependant, il est difficile à ce jour d'en tirer des conclusions quant à la responsabilité de cette vaccination dans la sélection de ce génotype moins bien contrôlé par le vaccin monovalent Rotarix™. La Belgique, effectivement, utilise essentiellement ce vaccin monovalent, L'Autriche a utilisé alternativement selon les années le vaccin monovalent ou le pentavalent (RotaTeq®), la Bulgarie a une faible couverture vaccinale. La Finlande est le troisième pays européen où la vaccination est implantée depuis plusieurs années avec une excellente couverture vaccinale ; il s'agit principalement du vaccin pentavalent.



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



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

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

#### 3.3.1.4. Conclusion

Cette surveillance épidémiologique des souches de rotavirus s'est effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale. En effet, la couverture vaccinale ne dépasse pas 8% tous vaccins confondus. Les résultats significatifs sont :

- La distribution saisonnière des épidémies de gastro-entérites à rotavirus s'étale en France principalement entre décembre et avril avec de faibles variations selon les saisons. Par contre, il semble exister une différence entre les centres parisiens, où les épidémies commenceraient plus tôt, dès décembre, suivi par les autres centres de province de février à avril.
- Répartition des génotypes des rotavirus
  - la **large prédominance du génotype G1** à l'exception de la saison 2004-2005.
  - **l'émergence de nouveaux génotypes** :
    - le **génotype G9** est devenu, depuis la saison 2004-2005, un génotype « classique » avec G1, G2, G3 et G4.
    - **l'émergence dès la saison 2011-2012 du génotype G12**, globalement moins brutale que celle du génotype G9, représentait en France environ 4% des souches avec des différences significatives selon les centres, et selon les pays pour l'étude européenne. Ce génotype reste marginal en France, nos résultats devront être comparés aux autres pays européens. Les résultats de la saison 2012-2013 présentés dans la figure 11b semblent montrer une diminution générale de ce génotype. Elle demande à être confirmée pour la saison 2013-2014.
  - la **variation cyclique des génotypes G2, G3 et G4**. Le génotype G2P[4] doit cependant être plus particulièrement suivi dans les pays où la couverture vaccinale est élevée, principalement avec le vaccin monovalent.
  - la stabilité de la fréquence des souches inhabituelles (notamment le génotype P[6]) et l'existence, parmi celles-ci, de **souches d'origine animale** infectant les enfants de cette étude.
- Outre cette variabilité saisonnière des génotypes, il existe une très **grande variabilité géographique**. Variabilité selon les centres en France et quelle que soit la saison – 2014-2015 comme les précédentes. Cette variabilité est également retrouvée au niveau des pays européens.

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

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

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

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

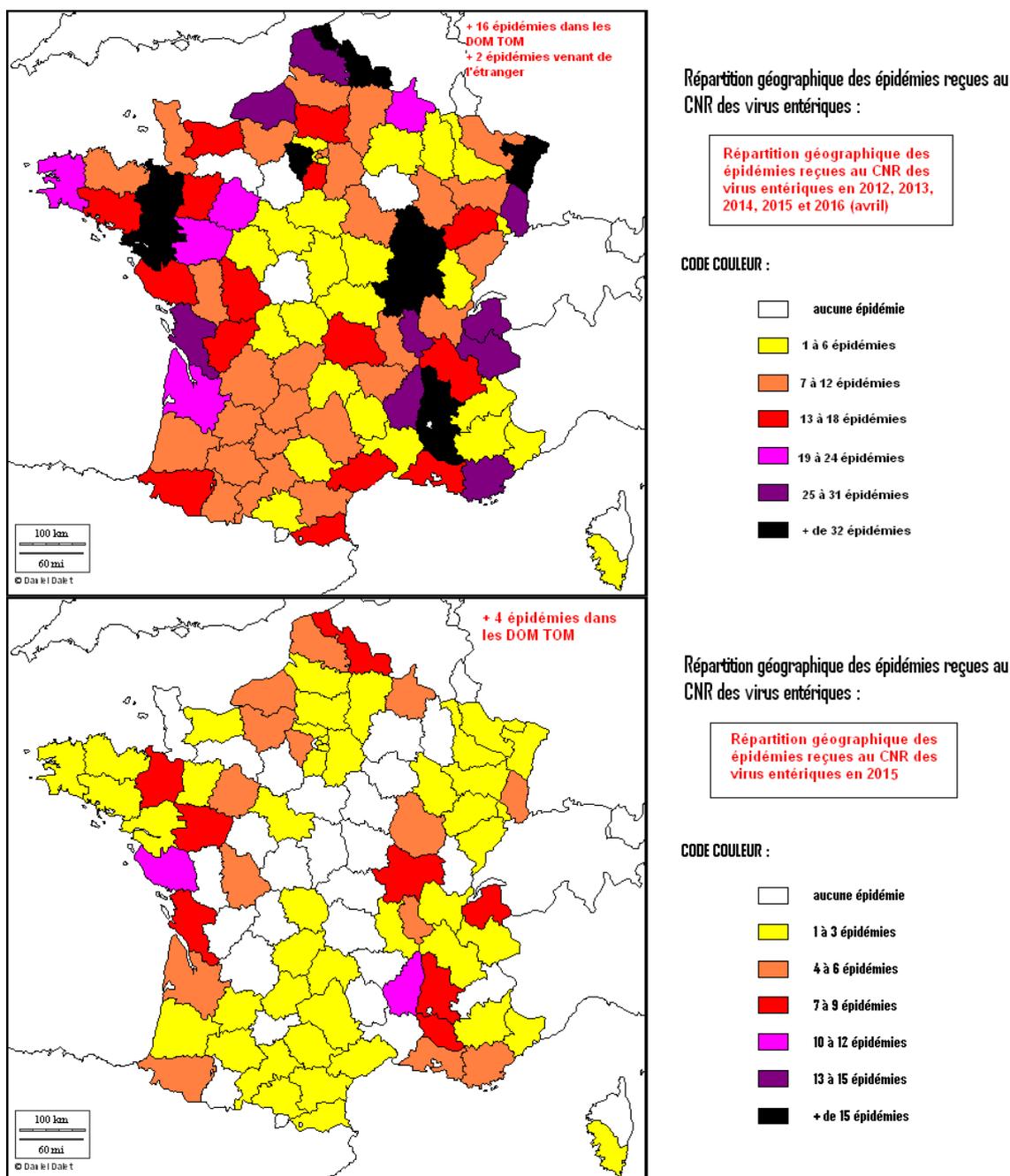
Toutes les données nous parvenant sont immédiatement transmises à **SPF** pour la coordination des investigations épidémiologiques et virologiques. **SPF** et les **CIRE** réalisent les investigations

épidémiologiques. **Un point hebdomadaire téléphonique avec SPF** est réalisé tous les mardis pour coordonner et suivre au plus près les investigations virologiques et épidémiologiques.

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

- **Réseau Sentinelle** : Notre interlocuteur est le Dr Mathieu RIVIERE.
- **Les autres laboratoires de référence**
  - **IFREMER** – Centre de Nantes (Dr Soizic LE GUYADER) : laboratoire de référence pour les virus entériques dans les **produits de la mer**. Ce laboratoire fait partie du même réseau européen que le nôtre (« EVENT/DIVINE »). Nous collaborons étroitement et en temps réel pour tous les cas groupés de gastroentérites dont l'origine suspectée est un produit de la mer (alerte, investigation, comparaison des souches etc...).
  - **ANSES – Unité de virologie des Aliments et de l'eau**, Maisons Alfort (Dr Sylvie PERELLE) : laboratoire de référence pour **l'eau et les aliments**. Nous collaborons avec ce laboratoire pour tous les cas groupés de gastroentérites dont l'origine suspectée est alimentaire ou hydrique (alerte, investigation, comparaison des souches...).
  - **ANSES – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy**, 40, Rue Lionnois F-54000 NANCY (Dr Benoît GASSILLOUD).
  - **Centres de Référence pour les Hépatites A et E**. AP-HP - Paris Paul Brousse (Pr Anne-Marie ROQUE-AFONSO) et CHU de Toulouse (Pr Jacques IZOPET). Nous collaborons étroitement avec ces CNR, notamment pour les épidémies d'origine hydrique ou alimentaire.
  - **Centres de Référence des entérovirus**, Hospices Civils de Lyon (Pr Bruno LINA) et CHU de Clermont-Ferrand (Pr Hélène PEIGUE-LAFEUILLE). Nous collaborons étroitement avec les CNR des entérovirus : nous assurons la détection dans les selles, en cas de positivité le virus ou le prélèvement est adressé au CNR des entérovirus pour une caractérisation moléculaire et une enquête virologique spécifique.

### 3.3.2.2. Provenance des échantillons

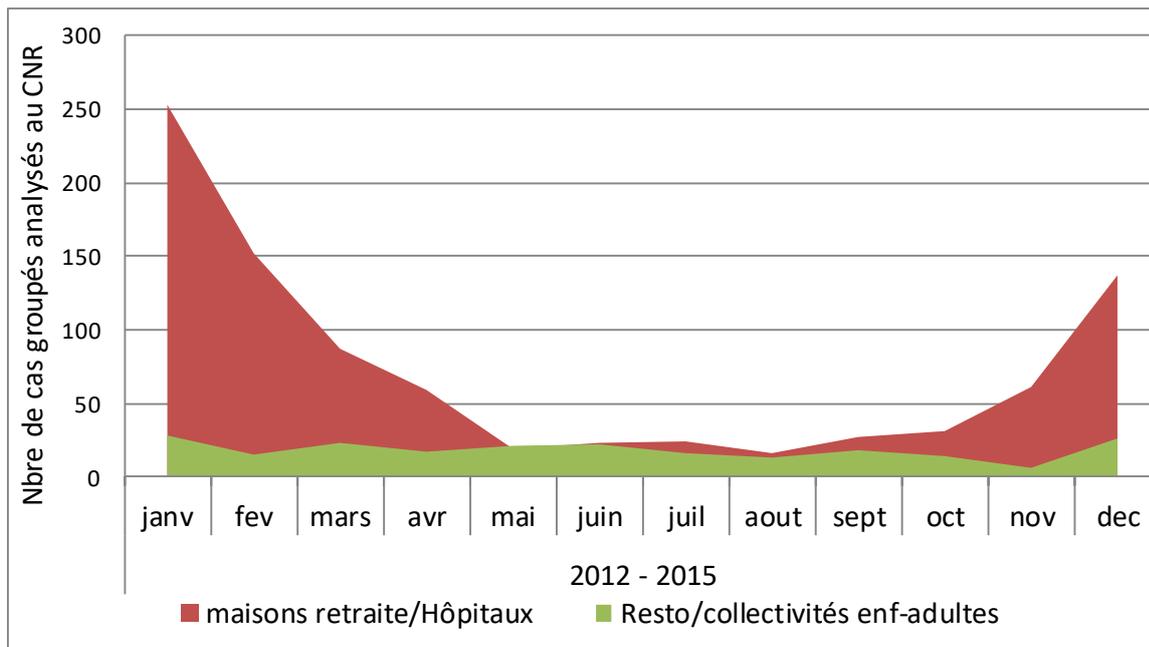


**Figure 12 :** Répartition géographique des épidémies reçues durant les années 2012 à 2016 et plus spécifiquement celles reçues en 2015. La plupart des départements nous ont envoyé des prélèvements au moins une fois durant les cinq années.

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

#### 3.3.2.3.1. Saisonnalité des épidémies

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



**Figure 13 :** Environ 71% des épidémies analysées au CNR sont survenues entre **novembre et mars**. Cette forte saisonnalité hivernale concerne les épidémies survenant en établissements de soins (78%), mais pas celles survenant en collectivités ou dans les restaurants (45%). Elle est notée pour toutes les années de la période étudiée, dont 2015. On obtient les mêmes différences de saisonnalité si l'on compare les épidémies transmises de personne à personne à celles d'origine alimentaire ou hydriques.

### 3.3.2.3.2. Sites et modes de transmission (2012 à 2016)

- **Mode de transmission** (Tableau 8, figures 14a/b et 15) : Durant cette période 2012-2016, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour 357 épidémies (27,5%). Le mode de transmission de personne à personne, le plus fréquent, est incriminé dans 693 épidémies (53,4%). Une origine alimentaire était à l'origine de 229 épidémies (17,6%) et une origine hydrique a été trouvée pour 19 épidémies (1,5%).

Respectivement pour 2015 (total 242 épidémies) : Origine inconnue : 47 épidémies (20,5%) ; personne à personne : 143 (62,5%) ; alimentaire : 34 (14,8%) ; origine hydrique : 5 (2,2%).

- **Site ou établissement** (Tableau 8 et figures 14/b et 16) : La grande majorité des 1298 épidémies recensées entre 2012 et 2016 est survenue dans des EHPAD : 875 épidémies soit 67,4%. Les autres sites sont des services hospitaliers (155 épidémies : 11,9%), des réceptions ou banquets (124 épidémies : 9,6%), des écoles (87 épidémies : 6,7%), des collectivités d'adultes 39 épidémies (2,1%) et 18 dans des communes (1%).

Respectivement pour 2015 : 160 épidémies en EHPAD (69,9%), 25 en hôpital (10,9%), 23 lors de réceptions (10%), 15 dans des centres pour enfants (6,6%), 4 épidémies en centres pour adultes (1,7%) et 2 épidémies dans des communes ou districts.

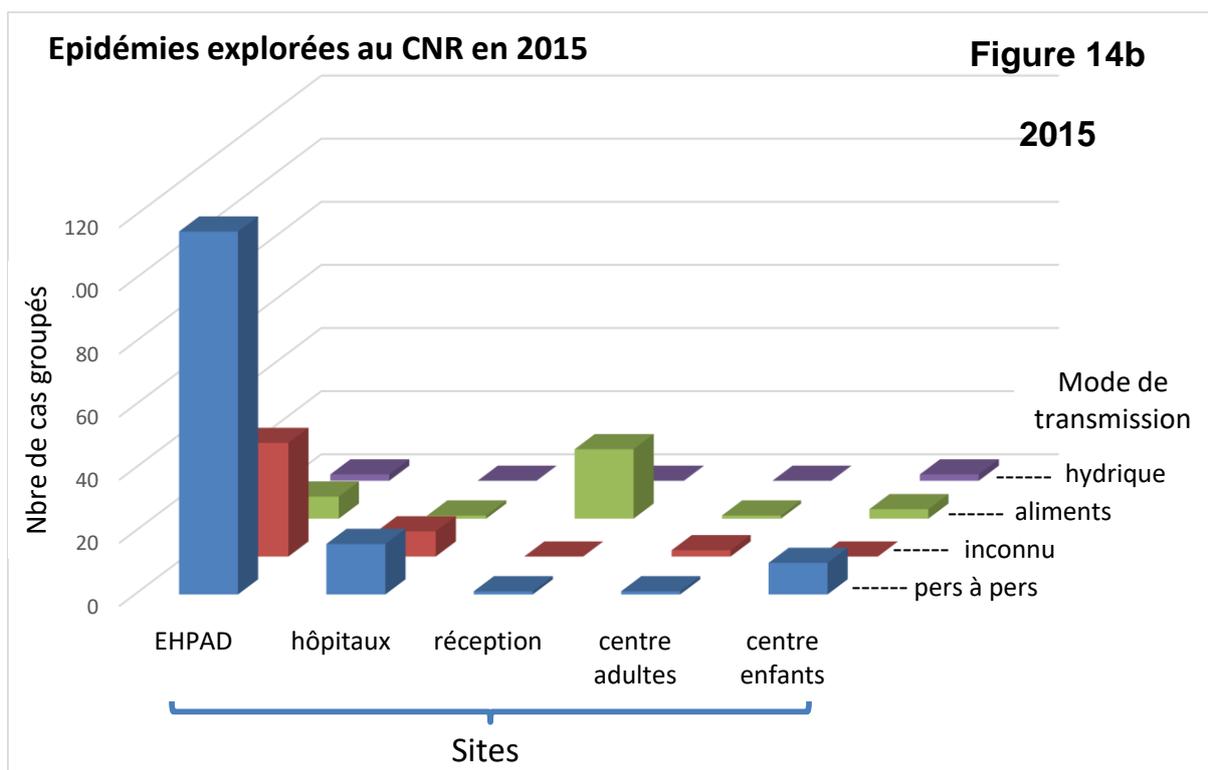
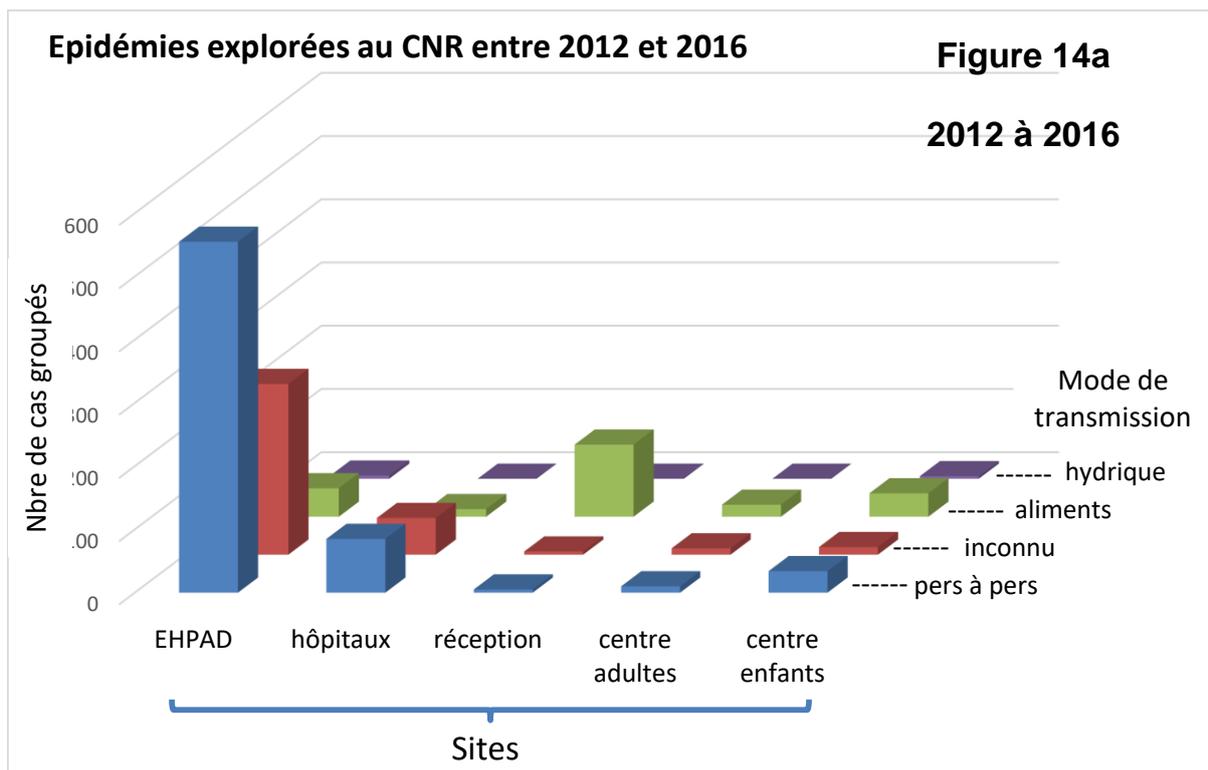
- **Relation site et mode de transmission** (Tableau 8 et figures 14a et b) : Pour la majorité des épidémies (2012 à 2016) provenant des EHPAD ou des services hospitaliers le mode de transmission est de personne-à-personne (62,1%) ou non connu (31,8%). L'origine alimentaire y est toutefois retrouvée dans environ 5,1% des épidémies. Comme attendu, une origine alimentaire est principalement trouvée dans les épidémies survenant lors d'une réception, dans les écoles et dans les centres pour adultes.

**Tableau 8** : Répartition des épidémies selon le site et le mode de contamination. Les observations rapportées pour 2015 ne sont pas significativement différente de celles des années 2012 à 2016. (Tableau 8 et figures 14).

**Mode de contamination**

<b>2012-2016</b>	pers à pers	inconnu	Aliments	eau	Total
EHPAD	555	270	45	5	875
hôpitaux	85	58	12	0	155
réception	5	5	114	0	124
centres enfants	34	12	37	4	87
centres adultes	10	10	19	0	39
commune	4	2	2	10	18
<b>Total</b>	<b>693</b>	<b>357</b>	<b>229</b>	<b>19</b>	<b>1298</b>
<b>2015</b>	pers à pers	inconnu	aliments	hydrique	Total
EHPAD	115	36	7	2	160
hôpitaux	16	8	1	0	25
réception	1	0	22	0	23
centre enfants	10	0	3	2	15
centre adultes	1	2	1	0	4
commune	0	1	0	1	2
<b>Total</b>	<b>143</b>	<b>47</b>	<b>34</b>	<b>5</b>	<b>229</b>

- Le nombre d'épidémies par saison est très lié à l'émergence d'un nouveau variant, La surveillance 2012 – 2016 en est un exemple avec une très forte épidémie durant la saison **2012 – 2013 due au nouveau variant GII.4 2012 ou Sydney** (Figures 15 à 19). La dernière saison hivernale 2015 – 2016 est particulière. Cette épidémie est importante - la deuxième en terme de nombre de cas durant cette surveillance. Cependant, elle est survenue un peu plus tardivement, pas avant décembre, et elle a été plus étalée, jusqu'en avril, ainsi le pic épidémique est un des plus bas. Cette **épidémie hivernale 2015 - 2016** n'est pas due à un nouveau variant de GII.4 mais au **génotype GII.17**. Ce génotype était « attendu » puisqu'il avait été signalé la saison précédente comme le principal norovirus responsable des épidémies dans d'autres pays. Contrairement aux variants GII.4 plus fréquemment retrouvé presque exclusivement dans les épidémies transmises de personne à personne, ce génotype GII.17 a été retrouvé dans les épidémies en EHPAD transmises de personne à personne et également dans celles observées lors de réceptions ou d'origine alimentaire.



**Figure 14 :** Bilan de l'activité du CNR entre 2012 et avril 2016. Relation entre type d'établissement et le mode de transmission.

**Figures 15 et 16 :** Évolution de cette activité depuis la saison 2011/2012 à 2015/2016.

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

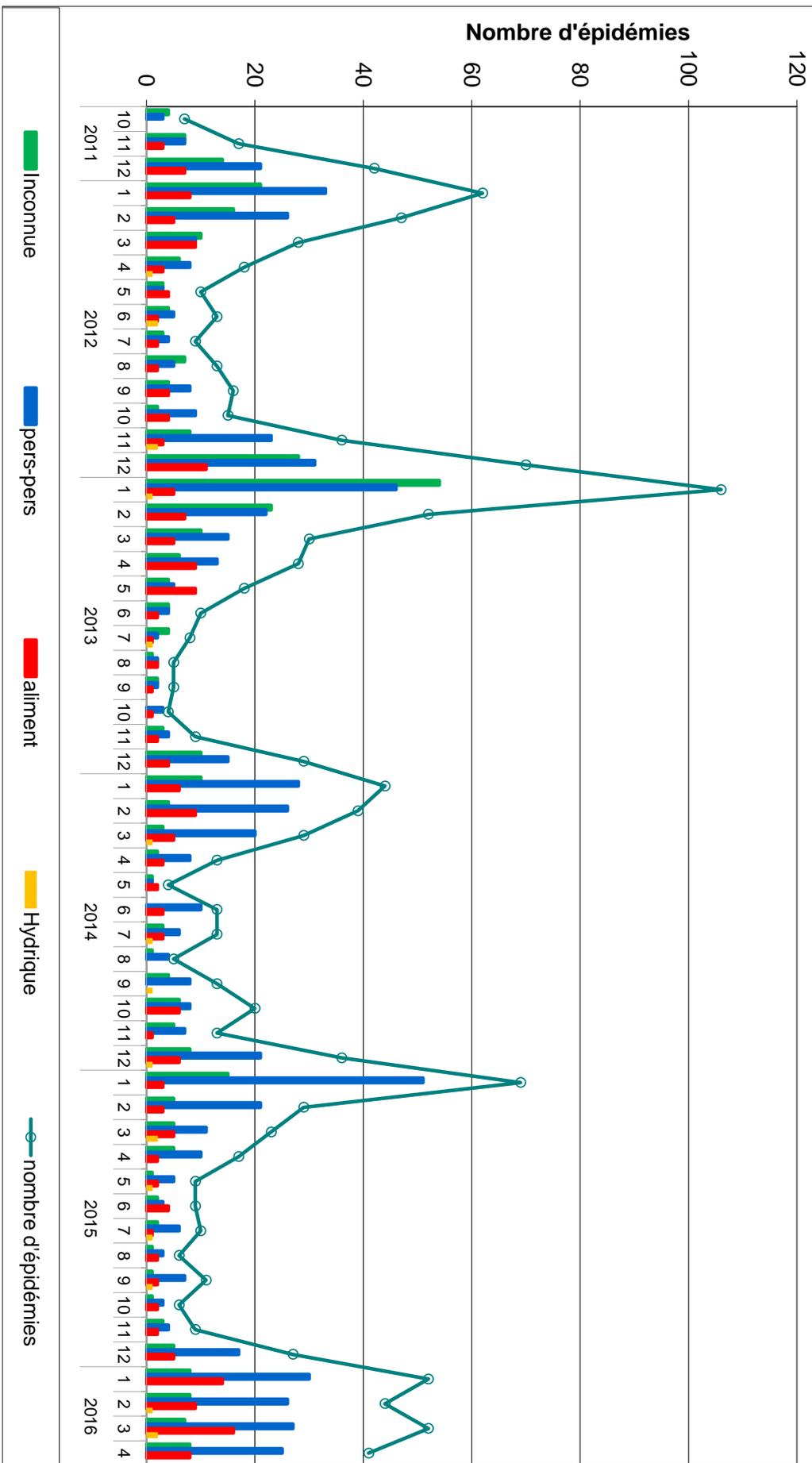
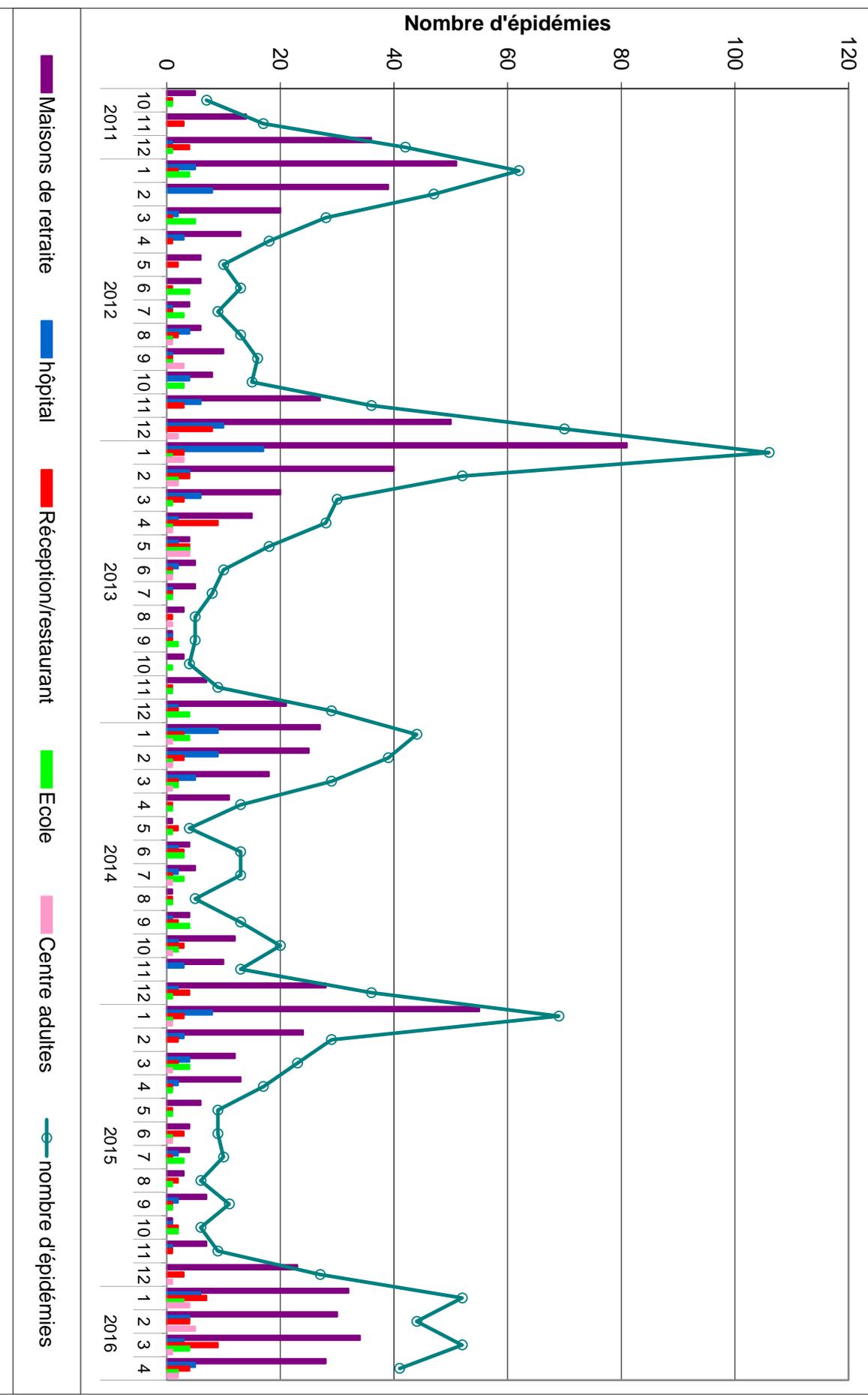


Fig 16: Epidémies de gastroentérites selon le site entre 2012 - 2016



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

- **Depuis janvier 2012 jusqu'à avril 2016**, 1298 épidémies ont été investiguées, pour 1098 d'entre elles un virus était retrouvé dans les selles analysées (84,6%). Le virus en cause est majoritairement un **norovirus** (987 épidémies soit 89,9% des épidémies positives) et pour 926 épidémies (84,3%) il était le seul virus détecté (la figure 17 montre l'évolution depuis l'hiver 2011/2012). Parmi les norovirus, ceux du génogroupe II (935 souches pour 871 épidémies) et plus particulièrement le génotype 4 (GII.4 : 593 souches pour 567 épidémies), sont largement prédominants (figures 17 et 18). Dans 111 épidémies (8,5% des épidémies positives) nous avons retrouvé un autre virus responsable : rotavirus (78 épidémies), sapovirus (20), adénovirus (17), astrovirus (7), virus Aichi (2). Aucun virus n'a été détecté pour 200 épidémies soit 15,4% des épidémies traitées.
- **Pour l'année 2015 et premier trimestre 2016** : 414 épidémies dont 368 avec au moins 1 virus (88,9%) ; un norovirus était associé à un autre virus dans 331 épidémies (89,9% des épidémies positives) ou seul (300/81,5%) ; un autre virus dans 37 épidémies (10,1%). Aucun virus n'a été détecté dans 46 épidémies soit 11,1%. Ces données sont voisines celles obtenues sur l'ensemble des années rapportées. La modification majeure de ces quinze derniers mois de surveillance est **l'émergence du génotype GII.17 lors de la dernière saison hivernale (129 épidémies à GII.17 contre 42 au GII.4 2012)**.

→ **Ainsi sur l'ensemble des années rapportées (figure 19)**: Les norovirus GII.4 sont les plus fréquemment retrouvés jusqu'en 2015 avec le **variant GII.4 2012** (ayant remplacé le variant 2009) les hivers 2012/2013, 2013/2014 et 2014/2015. Ensuite, le variant GII.4 2012 est devenu minoritaire l'hiver 2015/2016 au profit du **génotype GII.17**, génotype déjà isolé par le passé mais de façon sporadique et génétiquement légèrement différent. Les souches GII.17 isolées en 2016 sont proches des souches asiatiques isolées l'an dernier.

**Le génotype GII.6 ou GII.7 ou les recombinants GII.7/6** sont responsables selon les années, d'un nombre significatif d'épidémies, cela a été le cas lors des hivers 2011/2012 et 2013/2014. Nous n'avons aucune explication, comme par exemple la dérive génétique de ces souches, qui pourrait expliquer ces réapparitions cycliques.

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

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

Mode de transmission : Le mode de transmission de personne à personne des infections à norovirus GII.4 est plus fréquent que pour les autres génotypes. Les épidémies transmises de personne à personne sont ainsi plus fréquemment dues à un seul virus, voire 2 virus. Au contraire, les épidémies à norovirus GII.4 sont nettement moins fréquentes lorsqu'il s'agit d'une source alimentaire où jusqu'à 3 norovirus de génotypes différents peuvent être isolés

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

**Fig 17 : Virus responsables des épidémies. Période de 2012 à 2016**

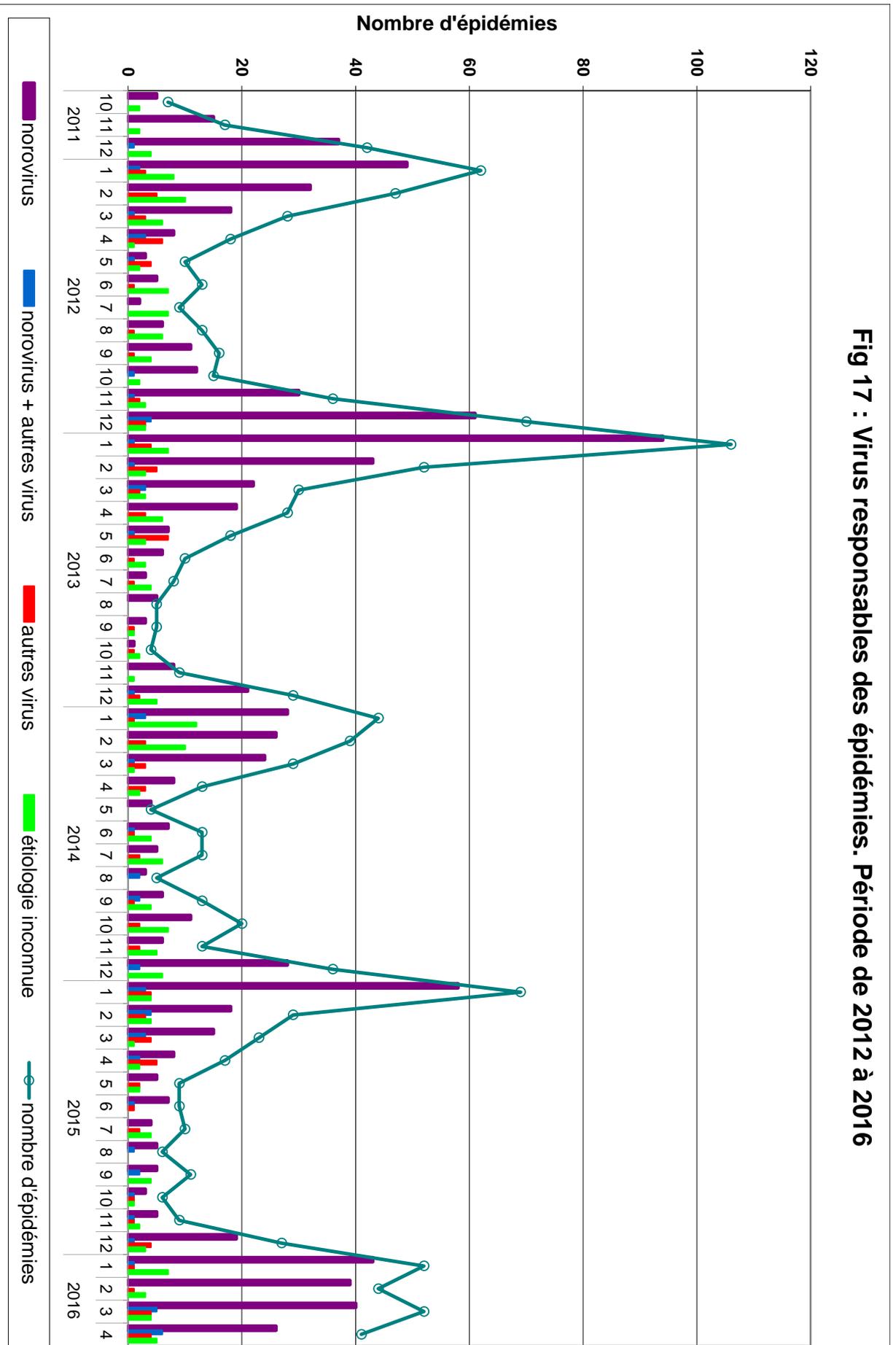
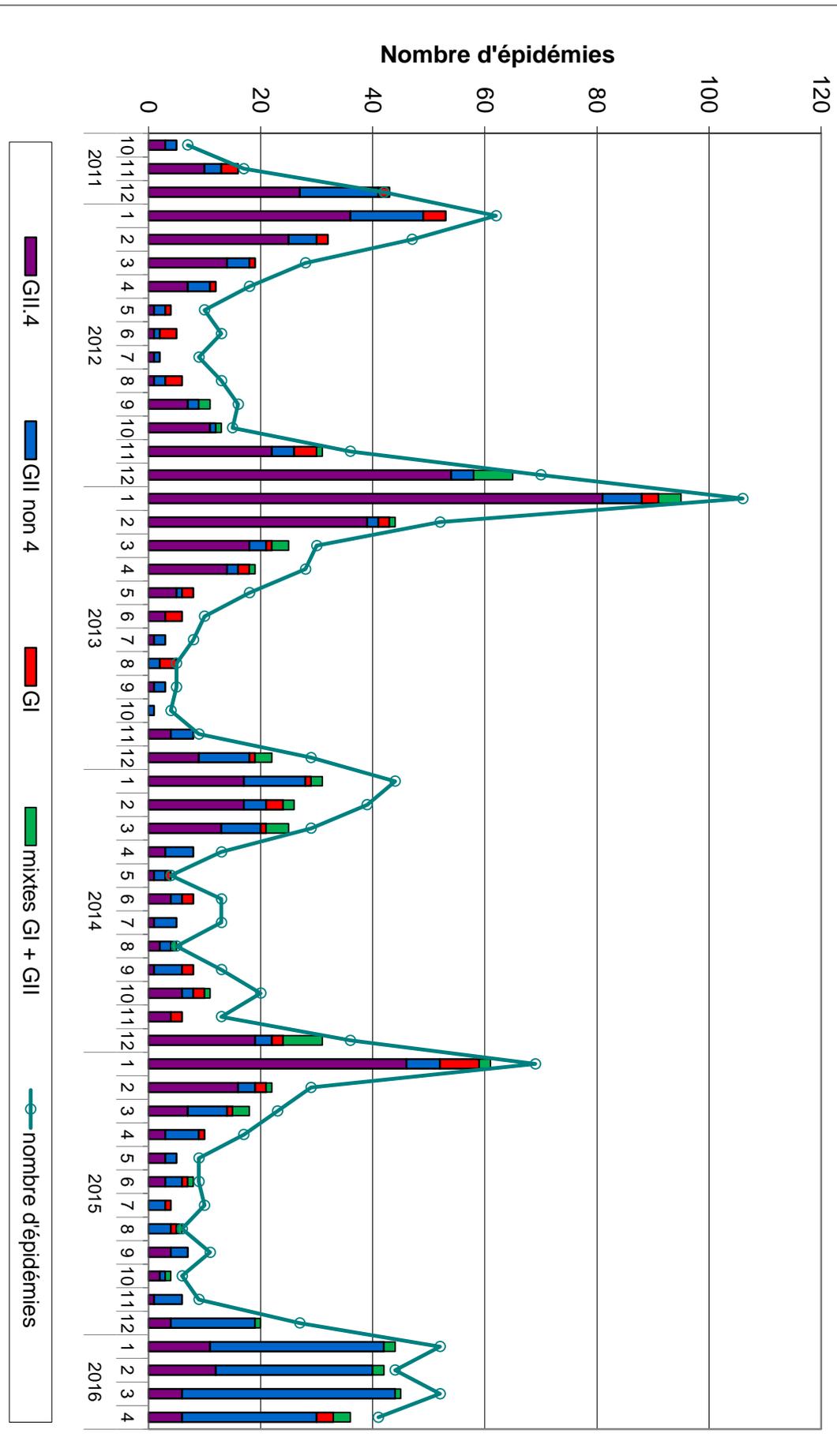
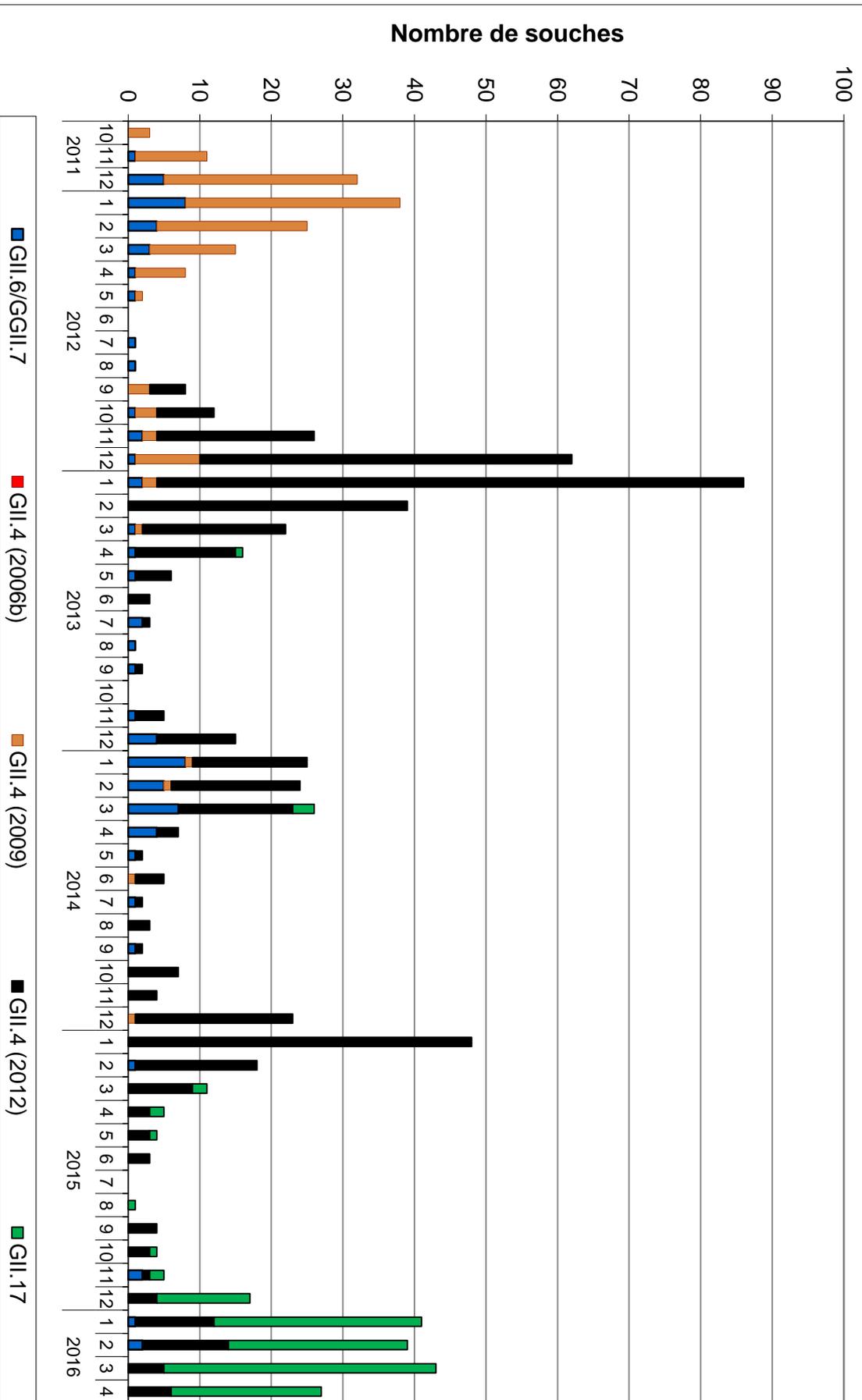
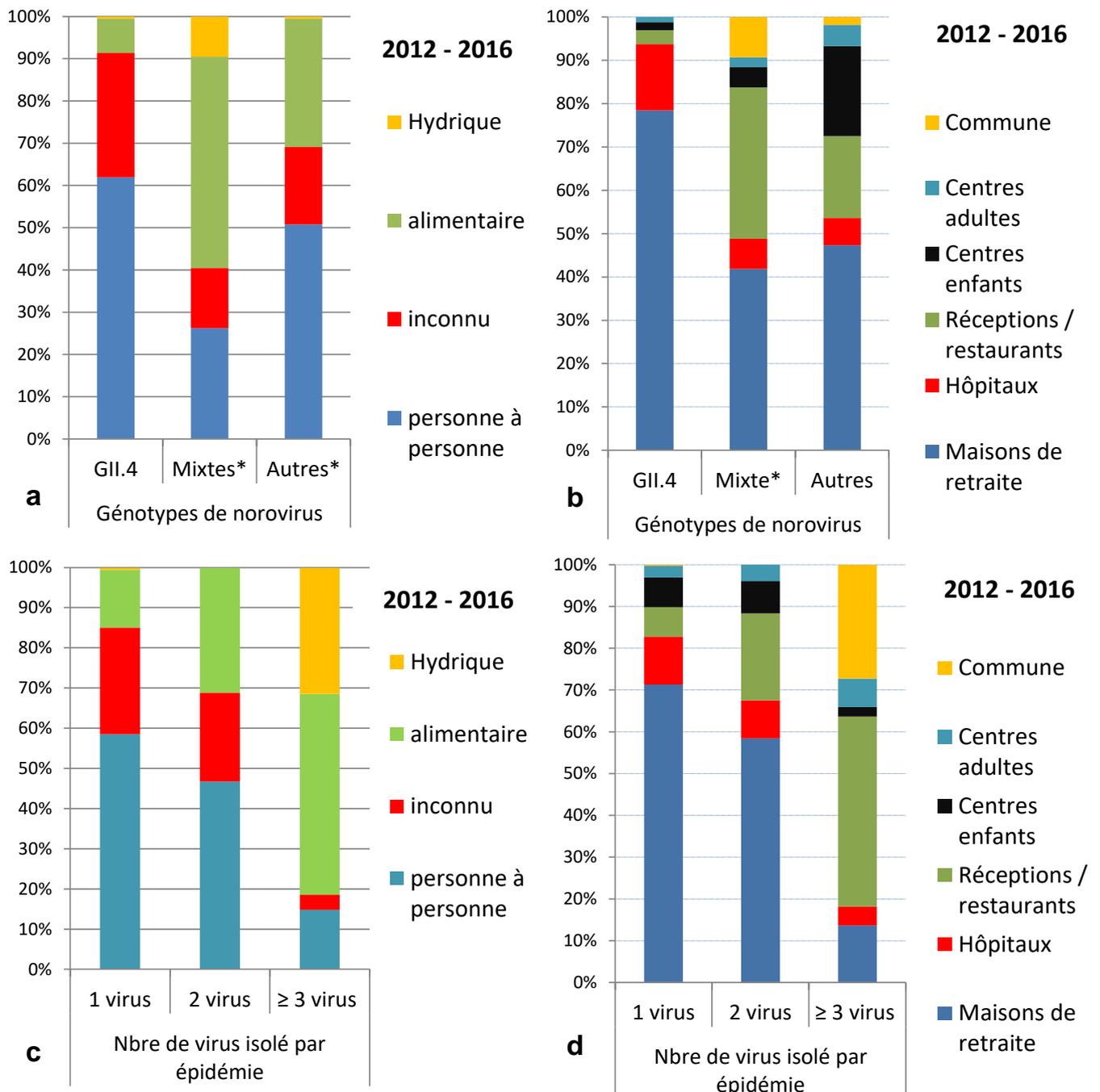


Fig 18 : Répartition des génogroupes de norovirus par épidémie



**Fig 19 : Evolution des principaux génotypes de norovirus ou "variants" GGII.4**





\* Les norovirus GII.17, nouveau génotype endémique, ont été retirés de l'analyse.

**Figure 20** : Caractéristiques des épidémies survenues entre 2012 et 2016. Analyse de la distribution des génotypes de norovirus (20a et b) et de leur nombre (20c et d) dans chaque prélèvement en fonction du mode de transmission (20a et c) ou du site de survenu de l'épidémie (20b et d).

Celles dues aux norovirus de génotype GII.4 sont plus fréquemment transmises de personne à personne et surviennent principalement en maison de retraite ou dans les services hospitaliers. De plus, dans ces établissements ou pour les épidémies transmises de personne à personne, on retrouvera au maximum 2 norovirus différents. Au contraire, dans les épidémies d'origine alimentaire ou hydrique on retrouve plus fréquemment plusieurs norovirus différents (≥3).

### 3.3.3. Contribution aux réseaux de surveillance internationaux

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

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

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

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

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

#### 3.3.3.2. Réseaux avec les pays Africains

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

##### 3.3.3.2.1. Réseau Tunisie

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

Durant les années 2012 à 2016 nous avons collaboré ou accueilli :

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

### **3.3.3.2.2. Programme d'Appui à la Recherche en Réseau en Afrique (PARRAF)**

Dès 2010 nous avons commencé une collaboration avec le **Niger** (Centre de Recherche Médicale et Sanitaire et l'Université, Niamey). Cette collaboration a été étendue au **Burkina Faso** à partir de 2011. Dans le cadre de cette collaboration nous avons accueilli **Mlle Nafissatou OUEDRAOGO** (doctorante à l'Université de Ouagadougou).

**Entre 2013 et 2016 nous avons étendu nos collaborations dans la région en participant au programme PARRAF** qui regroupe 2 partenaire « Nord », notre CNR et l'Unité des bactéries pathogènes entériques dirigée par le Dr François-Xavier WEILL et 5 partenaires « Sud » : l'Institut Pasteur de Dakar (**Sénégal**), l'Université de Ouagadougou (**Burkina Faso**), l'Institut National de Santé Publique (**Guinée Conakry**), l'Institut National de Recherche en Santé Publique (**Mali**), Centre de Recherche Médicale et Sanitaire de Niamey (**Niger**).

### **3.3.3.3. Autres collaborations internationales**

- **Palestine** : dans le cadre d'un projet Hubert Curien (MAQDISI 2013) : « *Prevalence of viral gastroenteritis among palestinian children in west-bank* », nous avons effectué une mission de 5 jours en Palestine entre les 18 et 23 février en 2014 pour planifier l'étude. Nous avons ensuite accueilli notre partenaire palestinienne, Rasha KHAYYAT, du 18 au 30 mai 2015.

## **3.4. CONTRIBUTION À L'ALERTE**

### **3.4.1. Contact hebdomadaire avec sante public france (SPF)**

**Un point hebdomadaire avec Santé Public France (SPF)** est effectué le mardi par rendez-vous téléphonique. Le réseau sentinelle est associé à cette réunion téléphonique.

Nos contacts à SPF sont Madame Nathalie JOUDAN-DA SILVA et Madame Nelly FOURNET. Notre interlocuteur au réseau sentinelle est Monsieur Mathieu RIVIERE depuis l'automne 2013.

### **3.4.2. Procédures d'alerte de sante public france et des autres partenaires**

#### **3.4.2.1. Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (ARS, laboratoire..)**

- ✓ **Inform**er le demandeur de l'existence de **formulaire**s à remplir disponibles sur le site internet.
- ✓ Déterminer l'**identifiant de l'épidémie** (code à garder tout au long de l'épidémie) de la manière suivante :

**code département – 2 premières lettres de la ville – mois – année**

(Exemple : épidémie à La Baule en mars 2006 = 44BA0306)

- ✓ Entrer ces premières informations dans la base **Voozanoo** de Santé Publique France (**SPF**)(<https://voozanoo.invs.sante.fr>).

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

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

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

### 3.4.3. Description de l'infrastructure informatique d'alerte

#### 3.4.3.1. Transmission des données à Santé Publique France (SPF)

**Voozanoo** (<https://voozanoo.invs.sante.fr>) : Voozanoo est une base de données partagée entre SPF et le CNR, qui permet un échange en temps réel des informations épidémiologiques et moléculaires sur les épidémies de gastroentérites annoncées et/ou traitées (voir paragraphe 4.4. et annexe 3. Procédure de traitement d'une épidémie).

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

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

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

##### 3.4.3.1.2. Rendu des résultats à Santé Publique France (SPF)

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

#### 3.4.3.2. Anonymisation des prélèvements

#### **Enregistrement des prélèvements reçus au CNR**

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

#### **Classement des dossiers**

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

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

## 4. PUBLICATIONS EN LIEN AVEC LES ACTIVITÉS DU CNR (2012-2016)

### 4.1. PUBLICATIONS NATIONALES

#### 2012

1. Gaspard P, Mosnier A, **Balay K**, Pothier P, Aho-Glélé L-S, Astruc K, Blech M-F, Bussy Malgrange V, Réveil J-C, Blassiau M, Gayet S, Bettinger A, Guerre G, Floret N, Gunther D, Roth C, Simon L, Rabaud C, Talon D et les référents EHPA du réseau Gastro-Géronto. Surveillance des gastro-entérites aiguës dans des établissements d'hébergement pour personnes âgées de la région Est de la France. *HygièneS*, 2012, 20 (3) 147-152
2. Couzigou C, Perniceni L, Gillard C, Nguyen J-C, Jagot J-L, **Ambert-Balay K**, Pothier P, Salmeron S. Maîtrise d'une épidémie de gastroentérite à norovirus dans un service hospitalier adulte. *HygièneS*, 2012, 20, 4, 257-261

#### 2013

3. Bolon A, Pravieux J-J, Mathevet P, Bernard S, Laurent J-L, Rehby L, Gueneau E, Pothier P, Kaplon J, **Ambert-Balay K**. Prévalence des agents responsables d'entérite néonatale bovine en Bourgogne : place des calicivirus. *Bulletin des GTV 2013, mars*; 68, 63-68

#### 2015

4. Vilain P, Gadouri K, Brottet E, Jourdan-Da Silva N, Belmonte O, Colbalchini P, Lignereux A, Olivier S, **Ambert-Balay K**, Kaplon J, Barbail A, Balleydier E, Larrieu S, Solet JL, Marguerite N, Pages F, Filleul L. Dynamique des épidémies de gastro-entérite à la Réunion et à Mayotte en 2014 détectées par le réseau OSCOUR®. *Bulletin de veille sanitaire 2015, Nov* ;28:7-10

#### 2016

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

### 4.2. PUBLICATIONS INTERNATIONALES

#### 2012

1. Midgley SE, Bányai K, Buesa J, Halaihel N, Hjulsager CK, Jakab F, **Kaplon J**, Larsen LE, Monini M, Poljšak-Prijatelj M, **Pothier P**, Ruggeri FM, Steyer A, Koopmans M, Böttiger B. Diversity and zoonotic potential of rotaviruses in swine and cattle across Europe. *Vet Microbiol*. 2012; 156: 238-245.
2. Verhoef L, Williams KP, Kroneman A, Sobral B, van Pelt W, Koopmans M; **on behalf of the Food-Borne Viruses in Europe Network**. Selection of a phylogenetically informative region of the norovirus genome for outbreak linkage. *Virus Genes*. 2012 Feb;44(1):8-18
3. Thouillot F, Delhostal C, Edel C, Bettinger A, **Pothier P**, **Ambert-Balay K**, Meffre C, Alsibai S. Gastroenteritis outbreaks in elderly homes in the east of France during winter 2009/10: aetiology research for a series of 37 outbreaks. *Euro Surveill*. 2012; 17 (9). Doi:pii: 20103.
4. Hassine-Zaafrane M, **Kaplon J**, Sdiri-Loulizi K, Aouni Z, **Pothier P**, Aouni M, **Ambert-Balay K**. Molecular prevalence of bovine Noroviruses and Neboviruses detected in central-eastern of Tunisia. *Arch. Virol*. 2012; 157 (8): 1599-604.
5. Deboosere N, Pinon A, Gaudrelier Y, Delobel A, Merle G, Perelle S, Temmam S, Loutreul J, Morin T, **Estienney M**, **Belliot G**, **Pothier P**, Gantzer C, Vialette M. Adhesion of human pathogenic enteric viruses and surrogate viruses to insert and vegetal food surfaces. *Food Microbiol*. 2012. 32 (1): 48-56.
6. Arena C, Amoros JP, Vaillant V, **Balay K**, Chikhi-Brachet R, Varesi L, Arrighi J, Blanchon T, Carrat F, Hanslik T, Falchi A. Simultaneous investigation of influenza and enteric viruses in the stools of adult patients consulting in general practice for acute diarrhea. *Virol J*. 2012 Jun 18;9:116.

## 2013

7. **Ambert-Balay K, Pothier P.** Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of norovirus in faecal samples. *J Clin Virol.* 2013; 56 (3): 194-198.
8. **Belliot G, Loutreul J, Estienney M,** Cazeaux C, Nicorescu I, Aho S, Gervais P, Orange N, **Pothier P,** Morin T. Potential of Pulsed Light to Inactivate Bacteriophage MS2 in Simple Liquid Medium and on Complex Foodstuffs. *Food Environ Virol.* 2013, 5:176–179.
9. Hassine-Zaafrane M, **Sdiri-Loulizi K, Kaplon J,** Salem IB, **Pothier P,** Aouni M, **Ambert-Balay K.** Prevalence and genetic diversity of norovirus infection in Tunisian children (2007-2010). *J Med Virol.* 2013; 85 (6): 1100-10.
10. van Beek J, **Ambert-Balay K,** Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, Iritani N, Kroneman A, Vennema H, Vinjé J, White PA, Koopmans M; NoroNet. Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. *Euro Surveill.* 2013 Jan 3 ;18 (1) :8-9.
11. **Agnello D, Denimal D, Lavaux A, Blondeau-Germe L,** Lu B, Gerard NP, Gerard C, **Pothier P.** Intrarectal immunization and IgA antibody-secreting cell homing to the small intestine. *J Immunol.* 2013; 190 (9) : 4836-47.
12. **Kaplon J, Fremy C,** Bernard S, Rehby L, Aho S, **Pothier P, Ambert-Balay K.** Impact of rotavirus vaccine on rotavirus genotypes and caliciviruses circulating in French cattle. *Vaccine.* 2013 ; 31 (20) :2433-40.
13. Coste JF, Vuiblet V, Moustapha B, Bouin A, Lavaud S, Toupance O, **de Rougemont A,** Benejat L, Megraud F, Wolak-Thierry A, Villena I, Chemla C, Le Magrex E, de Champs C, Andreoletti L, Rieu P, Leveque N. Microbiological diagnosis of severe diarrhea in kidney transplant recipients using multiplex PCR assays. *J Clin Microbiol.* 2013 ; 51(6): 1841-1.
14. Ruvoën-Clouet N, **Belliot G,** Le Pendu J. Noroviruses and histo-blood groups: the impact of common host genetic polymorphisms on virus transmission and evolution. *Rev Med Virol.* 2013; 23 (6):355-66.
15. Caillère N, Vilain P, Brottet E, **Kaplon J, Ambert-Balay K,** Polycarpe D, Filleul L. Major outbreak of gastroenteritis in Réunion Island in 2012: first identification of G12 rotavirus on the Island. *Euro Surveill.* 2013; 18: 20476 - Erratum in: *Euro Surveill.* 2013;18(23).
16. Caddy S, Emmott E, El-Attar L, Mitchell J, **de Rougemont A,** Brownlie J, Goodfellow I. Serological evidence for multiple strains of canine norovirus in the UK dog population. *PLoS One.* 2013 Dec 5;8(12):e81596. doi: 10.1371/journal.pone.0081596. eCollection 2013.
17. Gia Phan T, Phung Vo N, **Sdiri-Loulizi K,** Aouni M, **Pothier P, Ambert-Balay K,** Deng X, Delwart E. Divergent noroviruses in the feces of Tunisian children . *Virology.* 2013 Nov;446 (1-2) : 346-8.

## 2014

18. Page AL, Jusot V, Mamaty AA, Adamou L, **Kaplon J, Pothier P,** Djibo A, Manzo ML, Toure B, Langendorf C, Collard JM, Grais RF. Rotavirus surveillance in urban and rural areas of Niger, April 2010-March 2012. *Emerg Infect Dis.* 2014 Apr;20(4):573-80.
19. Ronchetti AM, Henry B, **Ambert-Balay K, Pothier P,** Decroocq J, Leblond V, Roos-Weil D. Norovirus-related chronic diarrhea in a patient treated with alemtuzumab for chronic lymphocytic leukemia. *BMC Infect Dis.* 2014 May 6 ; 14 : 239.
20. Hassine-Zaafrane M, Sdiri-Loulizi K, **Kaplon J,** Ben Salem I, **Pothier P,** Aouni M, **Ambert-Balay K.** Molecular detection of human noroviruses in influent and effluent samples from two biological sewage treatment plants in the region of Monastir, Tunisia. *Food Environ Virol.* 2014 ; 6 (2):125-31.
21. Hassine-Zaafrane M, Ben Salem I, Sdiri-Loulizi K, **Kaplon J,** Bouslama L, Aouni Z, Sakly N, **Pothier P,** Aouni M, **Ambert-Balay K.** Distribution of G (VP7) and P (VP4) genotypes of group A bovine rotaviruses from Tunisian calves with diarrhoea. *J Appl Microbiol.* 2014 Jun;116(6):1387-95.
22. **Belliot G,** Lopman BA, **Ambert-Balay K, Pothier P.** The burden of norovirus gastroenteritis: an important foodborne and healthcare-related infection. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Aug;20(8):724-30.
23. **Pothier P,** Kaiser L. Norovirus disease today. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Aug;20(8):716.
24. Colas de la Noue A, **Estienney M,** Aho S, Perrier-Cornet JM, **de Rougemont A, Pothier P,** Gervais P, **Belliot G.** Absolute humidity influences the seasonal persistence and infectivity of human norovirus. *Appl Environ Microbiol.* 2014 : 80 (23), 7196-7205.

25. Arena C, Amoros JP, Vaillant V, **Ambert-Balay K**, Chikhi-Brachet R, Jourdan-Da Silva N, Varesi L, Arrighi J, Souty S, Blancho T, Falchi A, Hanslik T. Acute diarrhea in adults consulting a general practitioner in France during winter: incidence, clinical characteristics, management and risk factors. *BMC Infect Dis.* 2014 Oct 30;14(1):574
26. Barret AS, Jourdan-Da Silva N, **Ambert-Balay K**, Delmas G, Bone A, Thiolet J-M, Vaillant V. Surveillance for outbreaks of gastroenteritis in elderly long-term care facilities in France, November 2010 to May 2012. *Eurosurveillance* 2014 July 24; 19(29)
27. Phan TG, Sdiri-Loulizi K, Aouni M, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**, Deng X, Delwart E. New parvovirus in child with unexplained diarrhea, Tunisia. *Emerg Infect Dis.* 2014 Nov;20 (11):1911-3.

## 2015

28. Makaya JM, **Kaplon J**, **Fremy C**, Barro N, Aho S, **Pothier P**, **Belliot G**, Traoré AS. Norovirus and rotavirus survival in urine collected from a public ecological sanitation system in Ouagadougou, Burkina Faso. *Food Environ Virol.* 2015 Mar;7(1):41-8.
29. Sykora S, Cumbo A, **Belliot G**, **Pothier P**, Arnal C, Dudal Y, Corvini PF, Shahgaldian P. Virus-like particles as virus substitutes to design artificial virus-recognition nanomaterials. *Chem Commun (Camb).* 2015 Feb 11;51(12):2256-8.
30. **Kaplon J**, Cros G, **Ambert-Balay K**, Leruez-Ville M, Chomton M, **Fremy C**, **Pothier P**, Blanche S. Rotavirus vaccine virus shedding, viremia and clearance in infants with severe combined immune deficiency. *Pediatr Infect Dis J.* 2015 Mar;34(3):326-8.
31. Vashist S, Urena L, Gonzalez-Hernandez MB, Choi J, **de Rougemont A**, Rocha-Pereira J, Neyts J, Hwang S, Wobus CE, Goodfellow I. The molecular chaperone Hsp90 is a therapeutic target for noroviruses. *J Virol.* 2015 Jun;89(12):6352-63.
32. Caddy SL, **de Rougemont A**, Emmott E, El-Attar L, Mitchell JA, Hollinshead M, **Belliot G**, Brownlie J, Le Pendu J, Goodfellow I. Evidence for human norovirus infection of dogs in the UK. *J Clin Microbiol.* 2015 Jun;53(6):1873-83.
33. de Graaf M, van Beek J, Vennema H, Podkolzin AT, Hewitt J, Bucardo F, Templeton K, Mans J, Nordgren J, Reuter G, Lynch M, Rasmussen LD, Iritani N, Chan MC, Martella V, **Ambert-Balay K**, Vinjé J, White PA, Koopmans MP. Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era? *Euro Surveill.* 2015 Jul 2;20(26).
34. Phan TG, da Costa AC, Zhang W, **Pothier P**, **Ambert-Balay K**, Deng X, Delwart E. A new gyrovirus in human feces. *Virus Genes.* 2015 Aug;51(1):132-5.
35. **Ayouni S**, **Estienney M**, **Sdiri-Loulizi K**, **Ambert-Balay K**, **de Rougemont A**, Aho S, Hammami S, Aouni M, Guédiche MN, **Pothier P**, **Belliot G**. Relationship between GII.3 norovirus infections and blood group antigens in young children in Tunisia. *Clin Microbiol Infect.* 2015 Sep;21(9):874.e1-8.
36. Gaspard P, **Ambert-Balay K**, Mosnier A, Aho-Glélé S, Roth C, Larocca S, Simon L, Talon D, Rabaud C, **Pothier P**. Burden of gastroenteritis outbreaks: specific epidemiology in a cohort of institutions caring for dependent people. *J Hosp Infect.* 2015 Sep;91(1):19-27.
37. Loury P, Le Guyader FS, Le Saux JC, **Ambert-Balay K**, Parrot P, Hubert B. A norovirus oyster-related outbreak in a nursing home in France, January 2012. *Epidemiol Infect.* 2015 Sep;143(12):2486-93.
38. Prevost B, Lucas FS, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**, Moulin L, Wurtzer S. Deciphering the Diversities of Astroviruses and Noroviruses in Wastewater Treatment Plant Effluents by a High-Throughput Sequencing Method. *Appl Environ Microbiol.* 2015 Oct;81(20):7215-22.
39. Hassine-Zaafraane M, **Kaplon J**, Ben Salem I, **Sdiri-Loulizi K**, Sakly N, **Pothier P**, Aouni M, **Ambert-Balay K**. Detection and genotyping of group A rotaviruses isolated from sewage samples in Monastir, Tunisia between April 2007 and April 2010. *J Appl Microbiol.* 2015 Nov;119(5):1443-53.
40. **Ayouni S**, **Sdiri-Loulizi K**, **de Rougemont A**, **Estienney M**, **Ambert-Balay K**, Aho S, Hamami S, Aouni M, Neji-Guediche M, **Pothier P**, **Belliot G**. Rotavirus P[8] Infections in Persons with Secretor and Nonsecretor Phenotypes, Tunisia. *Emerg Infect Dis.* 2015 Nov;21(11):2055-8.
41. **Kaplon J**, **Fremy C**, Pillet S, Mendes Martins L, **Ambert-Balay K**, Aho SL, **Pothier P**. Diagnostic Accuracy of Seven Commercial Assays for Rapid Detection of Group A Rotavirus Antigens. *J Clin Microbiol.* 2015 Nov;53(11):3670-3.
42. Ng TFF, Zhang W, Sachsenroder J, Kondov NO, da-Costa AC, Vega E, Holtz LR, Wu G, Wang D, Stine OC, Antonio M, Mulvaney US, Muench MO, Deng X, **Ambert-Balay K**, **Pothier P**, Vinje J, Delwart E. A diverse group

of small circular ssDNA viral genomes in human and non-human primate stools. *Virus Evolution* 2015 1 (1): vev017.

## 2016

43. Lupo J, Morel-Baccard C, Michard-Lenoir AP, Germe R, **Pothier P, Ambert-Balay K**, Morand P. Fatal case of acute gastroenteritis with multiple viral coinfections. *J Clin Virol*. 2016 Jan;74:54-6.
44. **Théry L, Bidalot M, Pothier P, Ambert-Balay K**. Evaluation of immunochromatographic tests for the rapid detection of the emerging GII.17 norovirus in stool samples, January 2016. *Euro Surveill*. 2016;21(4).
45. Ouédraogo N, **Kaplon J**, Bonkougou IJ, Traoré AS, **Pothier P**, Barro N, **Ambert-Balay K**. Prevalence and Genetic Diversity of Enteric Viruses in Children with Diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso. *PLoS One*. 2016 Apr 19;11(4):e0153652. doi: 10.1371/journal.pone.0153652. eCollection 2016.
46. Six C, Aboukais S, Giron S, D'Oliveira J-C, Peloux-Petiot F, Franke F, Terrien H, Dassonville F, Deniau J, **Ambert-Balay K**, Chesnot T, Ruimy R, Pélandakis M, Basset P, Munoz Rivero M, Malfait P. A rapid investigation of an outbreak of diarrhoeal illness in participants of Adventure Race - Alpes-Maritimes, France, June 2015 *Eurosurveillance*. *Euro Surveill*. 2016;21(23).
47. **De Rougemont A, Kaplon J, Fremy C**, Aho S, **Pothier P**. Clinical severity and molecular characteristics of circulating and emerging rotaviruses in young children attending hospital emergency departments in France French National Rotavirus, Network. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22(8):737.e9-15.
48. Pourasgari F, **Kaplon J**, Karimi-Naghani S, **Fremy C**, Otarod V, **Ambert-Balay K, Pothier P**. The molecular epidemiology of circulating bovine rotaviruses in Iran- a two-year study. *Archives of Virology*. Sous presse.
49. Aybeke EN, **Belliot G**, Lemaire S, **Estienney M**, Lacroute Y, **Pothier P**, Bourillot E, Lesniewska E. HS-AFM and SERS analysis of Murine Norovirus infection: involvement of the lipid rafts. *Small*, 2016. Sous presse.
50. Ayouni S, **Estienney M**, Hammami S, Guediche MN, Aouni M, **Pothier P, Belliot G, de Rougemont A**. Cosavirus, salivirus and bufavirus in diarrheal Tunisian infants. *PLoS One*, 2016. Sous presse.

## 4.3. COMMUNICATIONS NATIONALES

### 2012

1. Loutreul J, **Estienney M**, Cazeaux C, **Pothier P, Belliot G**, Morin T. Impact de la lumière pulsée sur le Virus de l'Hépatite A (VHA) et le bactériophage à ARN-F spécifique MS2. Journées Francophones de Virologie. Paris, 29 et 30 mars 2012.
2. **Sdiri-Loulizi K, Ambert-Balay K**, Ayouni S, **Pothier P**, Aouni M. Etude épidémiologique, présentation clinique et typage moléculaire des infections à calicivirus humains chez les enfants atteints de gastro-entérites en Tunisie. Journées Francophones de Virologie. Paris, 29-30 mars 2012.
3. **Sdiri-Loulizi K**, Ayouni S, **Bour JB**, Aouni M, Gueddiche MN, **Pothier P, Ambert-Balay K**. Caractérisation moléculaire et étude clinique des infections au virus Aichi détecté chez les enfants atteints de gastro-entérites en Tunisie. 32<sup>e</sup> RICAI, CNIT Paris La Défense, 23 novembre 2012.
4. Leveque N, Coste JF, Vuiblet V, Noël N, Debrumetz A, **de Rougemont A**, Benejat L, Wolak-Thierry A, Villena I, de Champs C, Rieu P, Andreoletti L. Diagnostic microbiologique moléculaire des épisodes de diarrhées aiguës sévères du patient adulte transplanté de rein. 32<sup>e</sup> RICAI, CNIT Paris La Défense, 23 novembre 2012

### 2013

5. **Ayouni S**, Sdiri-Loulizi K, **Estienney M, Ambert-Balay K, de Rougemont A**, Hamami S, Soltani M, Aouni M, Neji-Guediche M, **Pothier P, Belliot G**. "Infections à Rotavirus et Norovirus et antigènes de groupe sanguin. 33<sup>ème</sup> RICAI, Paris, 21-22 novembre 2013.

## 4.4. COMMUNICATIONS INTERNATIONALES

### 2012

1. **de Rougemont. A, Kaplon J**, Pillet S, Mory O, Gagneur A, Payan C, Meritet J-f, Mollat C, Coste-Burel M, Lorrot M, Bingen E, Foulongne V, Rodiere M, Gillet Y, Lina B, Parez N, Garbarg-Chenon A, Languépin J, Alain S, Agius G, Oriot D, Dubos F, Hober D, Colimon R, Vabret A, Freymuth F, Huet F, Aho S, **Fremy C**, Gendrel D, **Pothier P**, and the French Rotavirus Network Molecular and clinical characterization of rotavirus acute gastroenteritis in

French infants over 5 epidemic seasons, 2006-2011. 30<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Symposium of Paediatric Infectious Diseases, ESPID 2012, 8-12 May, Thessaloniki, Greece.

2. Page AL, Adamou L, **Kaplon J**, Jusot V, Mamaty AA, Djibo A, Laouali Manzo M, Toure B, Langendorf C, **Pothier P**, Collard JM, Grais RF. Burden and epidemiology of rotavirus diarrhea: results of a prevalence study in Niger. 10<sup>th</sup> International Symposium Rotavirus. 19-21 septembre 2012, Bangkok, Thaïlande. Communication également présentée au « International African Vaccinology Conference ». 8-12 novembre 2012. Le Cap, Afrique du Sud.

## 2013

3. **de Rougemont A, Kaplon J, Fremy C, Pothier P**, the French Rotavirus Network. "Molecular surveillance of rotavirus infections in French infants: towards the emergence of G12P[8] epidemic strains?" 31<sup>st</sup> Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infection Diseases, ESPID, Milano, Italy, May 2013.
4. **Kaplon J**, Cros G, **Ambert-Balay K**, Leruez-Ville M, **Pothier P**, Blanche S. "Rotavirus vaccine shedding and viremia in an infant with severe combined immune deficiency." 5<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, Valencia, Spain, 6-9 octobre 2013.
5. Pourasgary F, **Kaplon J**, Karimi-Naghlani S, **Frémy C, Pothier P**, Otarod V. The molecular epidemiology of circulating rotaviruses in newborn calves of Tehran and Alborz Provinces, Iran, in a two-year surveillance. 5<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, October 6-9, 2013, Valencia, Spain.
6. **Agnello D, Denimal D, Lavaux A, Blondeau-Germe L, Pitoiset C, Pothier P**. Homing of rotavirus specific memory B cells after mucosal immunization with 2/6 VLP in mice. 5<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, October 6-9, 2013, Valencia, Spain.
7. Colas de la Noue, **Pothier P, Belliot G**. A, Influence of environmental factors on Norovirus persistence. 5<sup>th</sup> International Conference Caliciviruses, October 12-15, 2013, Beijing, China.
8. **Ayouni S, Sdiri-Loulizi K, Estienney M, Pothier P, Ambert-Balay K, de Rougemont A**, Hamami S, Aouni M, Guediche MN, **Belliot G**. Rotavirus and Norovirus infections and secretor status. 5<sup>th</sup> International Conference Caliciviruses, October 12-15, 2013, Beijing, China. (*communication orale*).
9. **Belliot G**, Aybeke E, Ewing-Lemaire S, **Estienney M**, Noirot E, Bourillot E, Lesniewska E, **Pothier P**. Role of lipid rafts during Norovirus attachment. 5<sup>th</sup> International Conference Caliciviruses, October 12-15, 2013, Beijing, China.

## 2014

10. Carod J-F, Puget E, **Pothier P, Ambert-Balay K**. Validation of the Alpha-Tec Systems' ETM (Enteric Transport Media) for the detection of rotaviruses and adenoviruses from stool specimens using four rapid immunochromatographic tests. 114<sup>th</sup> American Society for Microbiology General Meeting, Boston, USA, 17-20 May, 2014.
11. Loisy-Hamon F, Leturnier G, Delage A, **Balay K, Pothier P**, Lebeau B. Standardised kits for rapid screening of norovirus and enteric viruses in clinical samples. 24<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain, 10-13 May 2014.
12. Carod J-F, Puget E, **Pothier P, Ambert-Balay K**. Validation of the Alpha-Tec Systems' ETM (Enteric Transport Media) for the detection of rotaviruses and adenoviruses from stool specimens using four rapid immunochromatographic tests. 24<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain, 10-13 May 2014.

## 2015

13. Moudjahed H, Alidjinou EK, **Ambert-Balay K, Pothier P**, Dewilde A, Lazrek M, Hober D, Goffard A. Comparison of laboratory methods for the detection of noroviruses in stool samples. 25<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases ECCMID – Copenhagen, Denmark, 25-28 April 2015.
14. **Ambert-Balay K, Bidalot M, Théry L**, Kastl L, Simons A. RIDA<sup>®</sup>GENE sapovirus – a new qualitative real-time PCR assay for the detection of sapovirus in human stool samples. 25<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases ECCMID – Copenhagen, Denmark, 25-28 April 2015.
15. Lagare A, Moumouni A, **Kaplon J**, Langendorf C, **Pothier P**, Grais R, Issaka B, Page AL. "Retrospective assessment of Vikia<sup>®</sup> Rota-Adeno and Premier Rotaclone<sup>®</sup> tests compared to Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction for detection of group A rotavirus", 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, , Dijon, France, 17-20 May 2015.

16. Ouedraogo N, **Kaplon J**, Bounkougou I J.O, **Fremy C**, Traore AS., **Pothier P**, Barro N, **Ambert-Balay K**. Rotavirus genotypes during pre-vaccine period in ouagadougou, burkina faso. 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
17. Alaoui Amine S, **Kaplon J**, Melloul M, **Ambert-Balay K**, Loutfi C, Doblali T, Touil N, Elfahime El Mustapha<sup>1</sup>, **Pothier P**. Partial genomic analyses of moroccan caprine rotavirus strains provide evidence for interspecies transmission. 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
18. Doblali T, Touil N, **Kaplon J**, **Ambert-Balay K**, Agadr A, El Hamzaoui S, **Pothier P**. Clinical and molecular descriptions of rotavirus in morocco 2 years after rotarix introduction. 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
19. **Ayouni S**, **Sdiri-Loulizi K**, **De Rougemont A**, **Estienney M**, **Ambert-Balay K**, Aho S, Hamami S, Aouni M, Neji-Guediche M, **Pothier P**, **Belliot G**. Relationship between rotavirus infection and blood group antigens. 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
20. **Agnello D**, Denimal D, **Pitoiset C**, **Lavaux A**, **Pothier P**. Competitive homing of rotavirus-specific memory B cells towards the gut-associated lymphoid tissues. 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
21. **De Rougemont A**, **Kaplon J**, **Fremy C**, Aho-Glele LS, **Pothier P**, The French Rotavirus Network. Transient emergence of G12 rotaviruses in french infants. 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
22. **Kaplon J**, **Fremy C**, Mendes Martins L, Pillet S, **Ambert Balay K**, Aho S, **Pothier P**. Diagnostic accuracy of seven commercial assays for the rapid detection of group A rotavirus antigens. 6<sup>th</sup> European Rotavirus Biology Meeting, 17-20 May 2015, Dijon, France.
23. **Agnello D**, Denimal D, **Pitoiset C**, **Lavaux A**, **Pothier P**. Asymmetric recirculation of alpha4beta7-expressing memory B cells throughout the gut-associated lymphoid tissues. 17<sup>th</sup> International Congress of Mucosal Immunology, 14-18 July 2015, Berlin, Germany

## 4.5. COMMUNICATIONS SUR INVITATION

### 2012

1. Risque viral digestif. Congrès national de la Société Française d'Hygiène Hospitalière. 8 juin 2012, Lille, France (**Pothier P**).
2. Role of the human blood group antigens A, B, H and Lewis in the evolution of GII.4 noroviruses. Virology seminar, Imperial College, London, 27 juin 2012 (**de Rougemont A**).
3. Rotavirus et vaccination, épidémiologie et évolution des génotypes. Séminaire gastro-entérites aiguës, 6 octobre 2012, Rabat, Maroc (**Pothier P**).
4. Le risque viral digestif. Séminaire gastro-entérites aiguës, 6 oct 2012, Rabat, Maroc (**Pothier P**).
5. Investigation virologique des cas groupés de gastroenteritis aiguës en collectivités en bourgogne et Franche-Comté. Importance des norovirus. Colloque veille et alertes sanitaires en Bourgogne et Franche-Comté, 16 octobre 2012, Beaune, France, (**Ambert-Balay K**).
6. Epidémiologie des gastro-entérites virale dans les pays développés. 23 novembre 2012, 32<sup>e</sup> RICAI, CNIT Paris La Défense (**Pothier P**).
7. Les virus émergents responsables de gastro-entérites. 23 novembre 2012, 32<sup>e</sup> RICAI, CNIT Paris La Défense (**de Rougemont A**).
8. Le diagnostic biologique des virus responsables de gastro-entérites. 23 novembre 2012, 32<sup>e</sup> RICAI, CNIT Paris La Défense (**Ambert-Balay K**).
9. Les virus entériques. Désinfectants et antiseptiques. Réunion des équipes opérationnelle d'hygiène, 28 février 2013, Strasbourg (**Pothier P**).
10. Norovirus et rotavirus. Une répartition mondiale. *Rencontres de l'APLF, 28-30 avril 2013, Marrakech, Maroc.* (**Pothier P**).

### 2013

11. Les virus entériques. Désinfectants et antiseptiques. Réunion des équipes opérationnelle d'hygiène, 28 février 2013, Strasbourg (**Pothier P**).

12. Virus et diarrhée chez l'enfant. Séminaire virus et diarrhées chez l'enfant, 9 avril 2013, Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise (**Pothier P**).
13. Norovirus et rotavirus une répartition mondiale. Rencontres de l'APLF, 28-30 avril 2013, Marrakech, Maroc (**Pothier P**).
14. Norovirus, astrovirus et Aichi virus : épidémiologie et risque nosocomial. Premières Journées Franco-Maghrébines, 23-25 octobre 2013, Marrakech, Maroc (**Pothier P**).
15. Gastro-entérites d'origine infectieuse: données actuelles. Premières Journées Franco-Maghrébines, 23-25 octobre 2013, Marrakech, Maroc (**Pothier P**).
16. Infections à norovirus : aspects clinico-biologiques et approches vaccinales, 1<sup>ère</sup> Journée Franco-Maghrébine de Virologie, Marrakech, 24 octobre 2013 (**de Rougemont A**).
17. Gastroentérites virales en collectivités - importance des norovirus. Journée régionale d'échange sur les toxico-infections alimentaires collectives en région Centre, Orléans, 7 novembre 2013 (**Ambert-Balay K**).
18. Les nouveaux virus responsables de gastro-entérites, 3<sup>e</sup> Journée de Virologie Clinique de la SFM, «Actualité sur les pathologies liées aux virus émergents », Paris, 20 novembre 2013 (**de Rougemont A**).

## 2014

19. Les vaccins rotavirus couverture vaccinale en 2014 et impact sur l'épidémiologie virale. Congrès SFM : actualités en vaccinologie, 1<sup>er</sup> avril 2014, Paris (**Pothier P**).
20. Infections à Norovirus. Journées Internationales de Biologie, 9 octobre 2014, Paris (**Pothier P**).
21. Qualitative and quantitative analysis of the binding of GII.4 norovirus variants onto human blood group antigens. 32<sup>nd</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infection Diseases, ESPID, Dublin (Ireland), May 2014 (**de Rougemont A**).

## 2015

22. Hépatites A, E et norovirus : symptômes et épidémiologie. 4<sup>e</sup> Rencontre Scientifique, Casino – Silliker, Paris, 5 février 2015 (**Pothier P**).
23. Bilan virologique et transfert de flore fécale. Réunion ANSM, Paris, 10 février 2015 (**Pothier P**).
24. Virus des gastro-entérites: Bilan des virus circulants, kits de dépistage et recherche étiologique. Réunion du groupe d'échanges de pratiques professionnelles (Gepp) sur la surveillance des IRA et des GEA en Ehpad, InVS, Paris, 12 octobre 2015 (**Pothier P**).
25. Virus: un risque émergent? Qu'en est-il de la viande? Steakexpert 9<sup>es</sup> Journées, TERRENA, 23-24 juin 2015, Angers (**Pothier P**).
26. Virus et risque alimentaire. Réunion Semestrielle ECA, Eurofins, Sausset-Les-Pins, France, 30 juin 2015, (**Pothier P**).
27. Les différents Norovirus et leur pathogénicité, 35<sup>e</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, 15 décembre 2015 (**de Rougemont A**).
28. Norovirus, Astrovirus, Aichivirus : épidémiologie et approches diagnostiques, 5<sup>e</sup> Journée de Virologie Clinique de la SFM, «Actualité sur les virus transmissibles par voie entérique », ASIEM, Paris, 16 décembre 2015 (**de Rougemont A**).
29. Actualités sur les gastro-entérites. 5<sup>e</sup> Journée de Virologie Clinique de la SFM, «Actualité sur les virus transmissibles par voie entérique », ASIEM, Paris, 16 décembre 2015 (**Pothier P**).
30. Transplantation fécale. Risque viral et prévention. 5<sup>e</sup> Journée de Virologie Clinique SFM, «Actualité sur les virus transmissibles par voie entérique », ASIEM, Paris, 16 décembre 2015 (**Pothier P**).

## 2016

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