

Rapport annuel d'activité

2020

Centre National de Référence
virus des gastro-entérites

Année d'exercice
2019



RÉSUMÉ ANALYTIQUE

I. LE CNR VIRUS DES GASTRO-ENTÉRITES

Le CNR virus des gastro-entérites (CNRvge) est hébergé au sein du Laboratoire de Virologie du CHU de Dijon. Le CNRvge y bénéficie d'une autonomie administrative (Unité Fonctionnelle spécifique) mais partage locaux et équipements avec le laboratoire au sein de la Plate-forme de Biologie Hospitalo-Universitaire (PBHU). Le CNRvge a été reconduit en 2017 et son responsable est le Professeur Alexis de ROUGEMONT. Les activités de diagnostic et de recherche du CNRvge reposent sur 0,9 ETP de biologistes médicaux, 1,4 ETP de biologistes scientifiques, 2,7 ETP de techniciens et 0,8 ETP de secrétaire.

II. LES MISSIONS ET LE CONTEXTE

Le CNRvge a des missions d'expertise, 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 **i)** deux virus en sont les principaux agents, les rotavirus (pour lesquels nous disposons d'un vaccin) et les norovirus; **ii)** trois groupes de patients sont principalement concernés par ces infections : les enfants pour le rotavirus, les personnes âgées vivant en collectivités (EHPAD surtout) pour les norovirus ; et enfin, les immunodéprimés ; **iii)** et ces infections surviennent régulièrement en période hivernale ou bien par épidémies brutales (cas groupés) lors de contaminations alimentaires ou hydriques.

III. LES OBJECTIFS DU CNR ET LES PRINCIPAUX RÉSULTATS EN 2019

Dans ce contexte, le CNRvge a concentré ses actions autour de 3 objectifs principaux : **i)** l'expertise virologique pour la communauté médicale, **ii)** la surveillance des gastro-entérites infantiles à rotavirus et **iii)** les gastro-entérites épidémiques en EHPAD.

i) Activités d'expertise virologique

- **évaluation de quatre tests triplex immunochromatographiques et treize tests de biologie moléculaire de divers fabricants pour la détection des norovirus et/ou rotavirus dans les selles.** Les résultats nous permettent un conseil avisé aux collègues qui nous contactent.
- **investigations virologiques chez 352 patients immunodéprimés.** Nous apportons notre expertise dans le diagnostic et le suivi de ces patients.
- **expertises virologiques de 236 cas sporadiques.** Nous apportons notre aide et notre expertise dans le diagnostic de cas parfois complexes.
- **bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal.** Nous apportons notre expertise aux institutions en charge de la réglementation (ANSM) et aux cliniciens utilisant cette approche thérapeutique (transfert technique et conseils).

ii) Gastro-entérites infantiles à rotavirus

Afin de pouvoir apprécier l'impact de la vaccination sur l'évolution ou l'émergence des génotypes du rotavirus, le CNRvge réalise une surveillance moléculaire continue depuis la saison 2001-2002. Les principaux résultats montrent une variabilité cyclique des génotypes avec l'émergence des souches G9 et G12, et une grande variabilité géographique. **Le point significatif de la saison 2018-2019 est la poursuite de la diffusion du génotype G9P[8] (49,1%) suite à sa réémergence en 2014-2015 et la diffusion du génotype G3P[8] « equine-like » (32,0%).** Le génotype G1P[8], moins fréquent cette saison (5,9%), reste le premier génotype toutes saisons confondues.

iii) Gastro-entérites épidémiques en EHPA / EHPAD ou cas groupés de gastro-entérites

Le CNRvge, en collaboration avec SPF, les CIRE, les ARS, les EHPAD et les LABM, réalise les investigations virologiques s'intégrant dans la prise en charge épidémiologique globale de ces épidémies.

- les points majeurs de la dernière saison de surveillance (2018-2019) a été la **prépondérance du variant recombinant GII.P16-GII.4(2012) (37,0%) et une circulation soutenue des norovirus GI (26,5%)**
- une étude prospective effectuée sur **dix années consécutives montre que les épidémies à norovirus représentent une charge importante pour les des établissements de long séjour** qui nécessiterait d'être évaluée sur le plan médico- économique.

IV. BILAN SCIENTIFIQUE

Les travaux de recherche et les collaborations du CNRvge ont fait l'objet de **5 publications internationales en 2019.**

EXECUTIVE SUMMARY

I. THE NRC FOR GASTROENTERITIS VIRUSES

The NRC for gastroenteritis (NRCgev) virus is located in the Laboratory of Virology at the University Hospital of Dijon. The NRCgev benefits from administrative autonomy (specific Functional Unit) but shares premises and equipment with the laboratory within the Hospital-University Biology Platform. The NRCgev was renewed in 2017 and its head is Prof. Alexis de ROUGEMONT, MD PhD. The diagnostic and research activities of the NRCgev are based on 0.9 FTE of medical biologists, 1.4 FTE of scientific biologists, 2.7 FTE of technicians and 0.8 FTE of secretary.

II. MISSIONS AND CONTEXT

The NRCgev has expertise, surveillance and alert missions related to Santé Publique France (SPF) in the field of viral gastroenteritis. In France as in Europe, viral gastroenteritis are essentially a problem of morbidity, but it is polymorphic because *i)* two viruses are the main agents, rotavirus (for which there is a vaccine) and norovirus; *ii)* three groups of patients are mainly concerned by these infections: children for rotavirus, elderly people living in communities (especially nursing homes) for noroviruses; and at last, immunocompromised patients; *iii)* and these infections occur frequently during winter time (person-to-person transmission) or food- and waterborne outbreaks (grouped cases).

III. OBJECTIVES AND MAIN RESULTS OF THE NRC IN 2019

In this context, the NRCgev has focused its actions around 3 main objectives: *i)* virological expertise for the medical community, *ii)* surveillance of rotavirus gastroenteritis in children and *iii)* gastroenteritis outbreaks in nursing homes.

i) Virological expertise activities

- **Evaluation of four triplex immunochromatographic tests and thirteen molecular biology tests from various manufacturers for the detection of noroviruses and/or rotaviruses in stool samples.** The outcomes help us to provide useful advice to colleagues who call us.
- **Virological investigations in 352 immunocompromised patients.** We bring our expertise in the diagnosis and follow-up of these patients
- **Virological expertise of 236 sporadic cases.** We bring our help and expertise in the diagnosis of sometimes complex cases.
- **Virological assessment prior to fecal microbiota transplant.** We bring our expertise to regulation institution (ANSM) and clinicians using this therapeutic approach (technical transfer and advice).

ii) Infant rotavirus gastroenteritis

In order to assess the impact of vaccination on the evolution or emergence of new rotavirus genotypes, the NRCgev is monitoring rotavirus infections since the 2001-2002 season. The main results show cyclic change in genotypes with the emergence of G9 and G12 strains, and a great geographical variability. **The significant observation of the 2018-2019 season is the continued spread of the G9P[8] genotype (47.0%) following its re-emergence during the 2014-2015 season and the spread of "equine-like" G3P[8] (32.0%.** The G1P[8] genotype, less frequent this season (5,9%), remains the first all-season genotype.

iii) Epidemic gastroenteritis in nursing homes or grouped cases of gastroenteritis

The NRCgev, in collaboration with SPF, the CIRE (Cellules d'Intervention en Région), the ARS (Agence Régionale de Santé), nursing homes and private laboratories, carries out virological investigations relevant in the global epidemiological management of these epidemics.

- the last winter surveillance season (2018-2019) showed the preponderance of the **GII.P16-GII.4 (2012) recombinant (37,0%) and a sustained circulation of GI noroviruses (26,5%)**
- a prospective study carried out over **ten consecutive years shows that norovirus outbreaks represent a significant burden for nursing homes** which would need to be evaluated on a medico-economic level.

IV. SCIENTIFIC REPORT

The NRCgev and collaboration research works led to **5 international publications in 2019.**

SOMMAIRE

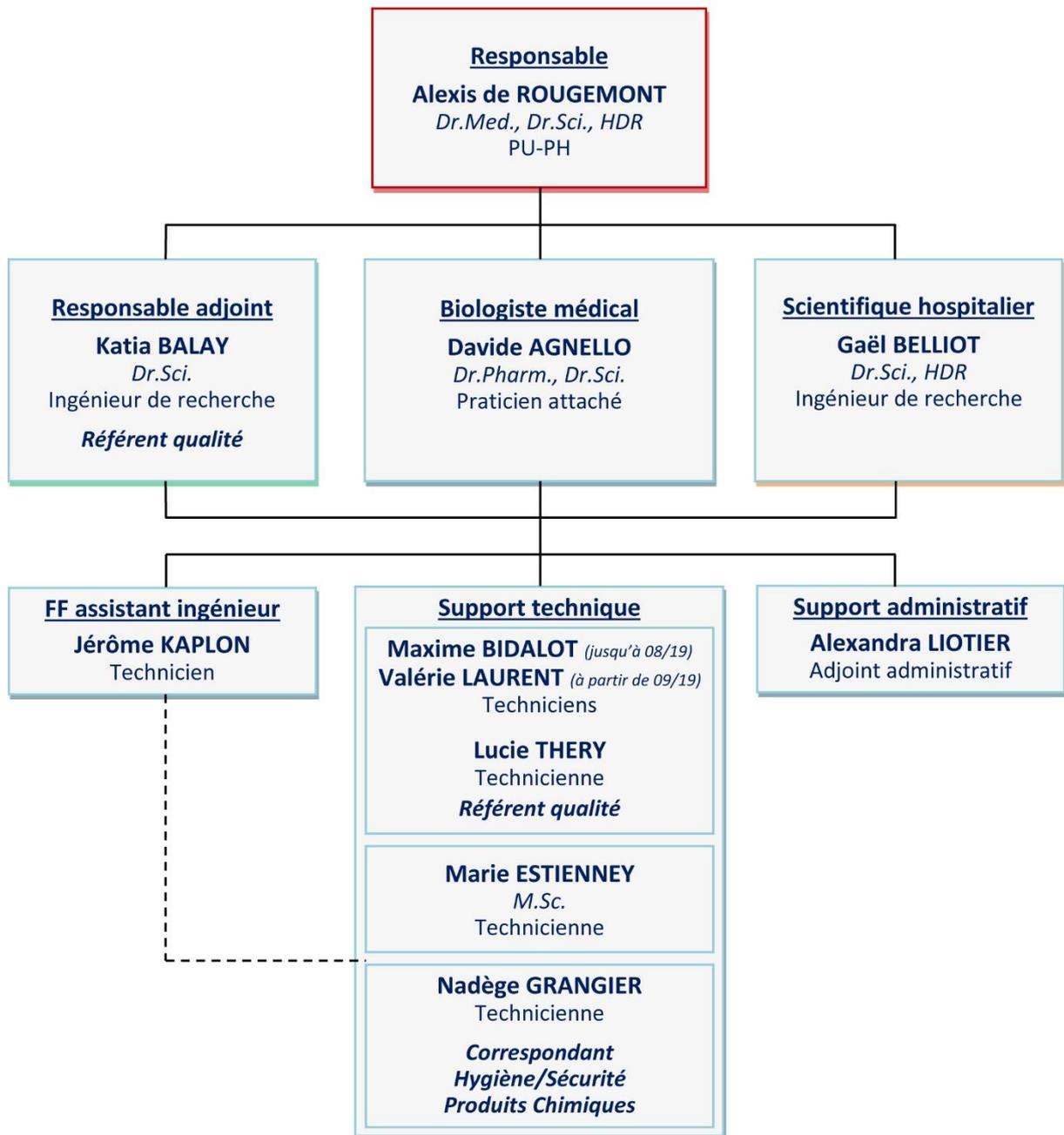
| | |
|---|-----------|
| 1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR | 1 |
| 2. ACTIVITÉS D'EXPERTISE | 3 |
| 2.1 ÉVOLUTION DES TECHNIQUES DU CNR | 3 |
| 2.2 TRAVAUX D'ÉVALUATION DES TECHNIQUES, RÉACTIFS ET TROUSSES | 3 |
| 2.3 TRANSFERT DES TECHNIQUES À D'AUTRES LABORATOIRES | 4 |
| 2.4 COLLECTIONS DE MATÉRIELS BIOLOGIQUES | 4 |
| 2.5 ACTIVITÉS D'EXPERTISE DU CNR EN 2018 | 4 |
| 2.5.1 Investigations virologiques des épidémies de cas groupés | 4 |
| 2.5.2 Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal | 8 |
| 2.5.3 Investigations virologiques de cas sporadiques | 8 |
| 2.5.4 Délai de restitution des résultats | 10 |
| 2.6 ACTIVITÉS DE SÉQUENÇAGE | 11 |
| 3. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE | 13 |
| 3.1 DESCRIPTION DU RÉSEAU DE PARTENAIRES | 13 |
| 3.1.1 Réseau de surveillance des cas groupés de gastro-entérites | 13 |
| 3.1.2 Réseau de surveillance des gastro-entérites à rotavirus | 15 |
| 3.2 SURVEILLANCE DE L'ÉVOLUTION ET DES CARACTÉRISTIQUES DES INFECTIONS | 15 |
| 3.2.1 Caractéristiques épidémiologiques des cas groupés | 15 |
| 3.2.2 Caractéristiques virologiques des épidémies de gastro-entérites à rotavirus en France : bilan de la surveillance de la saison 2017-2018 | 18 |
| 3.3 INTERFACES AVEC LES RÉSEAUX DE SURVEILLANCE NATIONAUX OU INTERNATIONAUX | 25 |
| 3.3.1 Réseaux internationaux « NoroNet » et « EuroRotaNet » | 25 |
| 3.3.2 Réseaux avec les pays Africains | 26 |
| 3.4 ÉTUDES PONCTUELLES CONCOURANT À LA SURVEILLANCE | 26 |
| 3.4.1 Suivi des établissements long séjour du CHU de Dijon | 26 |
| 3.4.2 Caractérisation de nouveaux virus dans les selles de patients | 26 |
| 4. ALERTE | 27 |
| 4.1 CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE (SPF) | 27 |
| 4.2 PROCÉDURES D'ALERTE DE SPF ET DES AUTRES PARTENAIRES | 27 |
| 4.2.1 Annonce d'une épidémie par téléphone au CNR (par une ARS, un laboratoire...) | 27 |
| 4.2.2 Arrivée de prélèvements sans annonce préalable | 27 |
| 4.3 DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE | 27 |
| 4.3.1 Transmission des données à SPF Voozanoo | 27 |
| 4.3.2 Anonymisation des prélèvements | 27 |
| 5. ACTIVITÉS DE RETRO-INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL | 29 |
| 5.1 CONSEIL ET EXPERTISE AUX PROFESSIONNELS DE SANTÉ | 29 |
| 5.1.1 Site internet « www.cnr-ve.org » | 29 |
| 5.1.2 Activité de formation | 29 |
| 5.1.3 Activité de conseil aux professionnels de santé | 29 |
| 5.2 CONSEIL ET EXPERTISE AUX AUTORITÉS SANITAIRES | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 6. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITÉ DU CNR | 31 |
| <hr/> | |
| 6.1 ACTIVITÉS DE RECHERCHE DU CNR EN COURS POUR 2018 | 31 |
| 6.1.1 Études en cours non publiées | 31 |
| 6.1.2 Évaluation de réactifs de biologie | 33 |
| 6.1.3 Études épidémiologiques en France et dans le monde(<i>abstracts</i>) | 33 |
| 6.1.4 Recherche fondamentale sur les virus entériques (<i>abstracts</i>) | 35 |
| 6.2 LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DU CNR (2018) | 35 |
| 6.2.1 Publications internationales | 35 |
| 6.2.2 Publications nationales et chapitres d'ouvrage | 36 |
| 6.2.3 Communications internationales | 36 |
| 6.2.4 Communications nationales | 36 |
| | |
| 7. COOPÉRATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTÉ ANIMALE, D'HYGIÈNE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX, INDUSTRIELS | 37 |
| <hr/> | |
| 7.1. COOPÉRATIONS STRUCTURELLES DANS LE CADRE DES ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE ET D'ALERTE | 37 |
| 7.2. COOPÉRATIONS DANS LE CADRE DE PROJETS DE RECHERCHE | 37 |
| 7.2.1 Coopérations universitaires | 37 |
| 7.2.2 Projets | 37 |
| 7.2.3 Collaboration avec l'INRA | 38 |
| 7.2.4 Conclusion sur nos coopérations | 38 |
| | |
| 8. PROGRAMME D'ACTIVITÉ POUR LES ANNÉES SUIVANTES | 39 |
| <hr/> | |
| 8.1. ACTIVITÉS D'EXPERTISE | 39 |
| 8.1.1 Évaluation de trousse de diagnostic | 39 |
| 8.1.2 Développement de techniques | 39 |
| 8.1.3 Mode de constitution, de stockage et mise à disposition des collections | 40 |
| 8.1.4 Travaux d'évaluation de techniques | 40 |
| 8.1.5 Projets de transferts de techniques vers d'autres laboratoires | 41 |
| 8.1.6 Recherche liées avec les missions du CNR des virus des gastro-entérites | 41 |
| 8.2. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE | 42 |
| 8.2.1 Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à rotavirus | 42 |
| 8.2.2 Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à norovirus | 42 |
| 8.3. CONTRIBUTION À L'ALERTE | 42 |
| 8.4. ACTIVITÉ D'INFORMATION, FORMATION ET CONSEIL | 43 |
| 8.4.1 Modalités de diffusion de l'information et des résultats | 47 |
| 8.4.2 Collaboration/expertises auprès d'instances nationales ou internationales | 47 |
| 8.4.3 Activité de formation | 47 |

1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR VIRUS DES GASTRO-ENTERITES

Les missions et l'organisation du CNR des virus des gastro-entérites sont détaillées dans l'annexe 1. Elles ont été définies dans le cahier des charges spécifiques du CNR paru en 2016 pour la période 2017-2021. Aucune modification n'est intervenue à ce niveau en 2019.

Organigramme CNR virus des gastro-entérites (CNRvge)



2. ACTIVITÉS D'EXPERTISE

Éléments clefs de l'activité d'expertise du CNRVge en 2019 :

- délai moyen de rendu des résultats de 2,6 jours
- évaluation de quatre tests immunochromatographiques triplex rota-ado-no et treize tests de biologie moléculaire pour la détection des norovirus et/ou rotavirus dans les selles.
- expertises virologiques de 214 épidémies de cas groupés : 181 souches de norovirus dont 73,5% de GII (45,3% de GII.4, majoritairement des GII.P16-GII.4(2012)) et 26,5% de GI.
- investigations virologiques chez 352 patients immunodéprimés : 27,3% de patients positifs et prépondérance des norovirus (54 souches).
- expertises virologiques de 236 cas sporadiques.
- bilan virologique de 25 selles pour transplantation de microbiote fécal.

2.1 ÉVOLUTION DES TECHNIQUES DU CNR

Outre la détection par PCR en temps réel (RT-qPCR) des astrovirus MLB-1/2/3 et VA-1/2/3/4/5 et des hépatites A et E dans les selles et autres prélèvements, nous sommes en cours de déploiement des techniques de RT-qPCR pour la détection des cosavirus et salivirus (*Picornaviridae*) et des bufavirus et tusavirus (*Parvoviridae*).

Le développement se poursuit progressivement pour les techniques de séquençage haut-débit (NGS) pour la détection des virus entériques ARN dans les selles à l'aide de la plate-forme Illumina (MiSeq et NextSeq) disponible au CHU. Un technicien faisant fonction d'assistant ingénieur a été formé aux systèmes de bio-informatique. Le déploiement de ces techniques se feront progressivement au cours de l'exercice du mandat du CNRVge.

Les procédures de référence disponibles pour la détection par qPCR/RT-qPCR (adénovirus, virus Aichi, astrovirus, bocavirus, rotavirus du groupe A, norovirus GI et GII, sapovirus, entérovirus, paréchovirus, hépatite A, hépatite E) et par RT-PCR (CMV et génotypage des rotavirus groupe A) sont détaillées dans l'annexe 2.

2.2 TRAVAUX D'ÉVALUATION DES TECHNIQUES, RÉACTIFS ET TROUSSES

Au cours de l'année 2019, nous avons évalué :

- **treize trousse de biologie moléculaire simplex et/ou multiplex**, actuellement sur le marché, pour la détection dans les selles à minima des **norovirus et rotavirus**, et comparé leurs performances aux techniques de RT-qPCR employées en routine au CNRVge. Il s'agit des trousse :
 - 4 trousse rotavirus** : Altona Diagnostics RealStar® Rotavirus RT-PCR Kit 1.0 (réf. 561013), Certest Biotec Viasure® Rotavirus Real time PCR detection kit (réf. VS-RTV112L), PrimerDesign Genesig® Rotavirus A (réf. Path-RotavirusA), R Biopharm Ridagene® Viral Stool Panel II (réf. PG1325);
 - 5 trousse norovirus** : Altona Diagnostics RealStar® Norovirus RT-PCR Kit 2.0 (réf. 052013), Certest Biotec Viasure® Norovirus GI + GII Real time PCR detection kit (réf. VS-NOR112L), PrimerDesign Genesig® Norovirus Genogroups I and II (ref. Path-Norovirus), R Biopharm Ridagene® Norovirus I et II (réf. PG1415), Eurobio EurobioPlex® Norovirus (réf. EBX-025)
 - 4 trousse multiplex** : Diagenode G-DiaNota® Norovirus I/II Rotavirus (ref. DDGG10-L100), Fast-track Diagnostics FTlyoViral® Gastroenteritis (réf. FTlyo-3s-64-L), Seegene Allplex® GI virus (réf. GI9701X), Immundiagnostik AG MutaPLEX® GastroSys 1 (réf. KG198696). Ces évaluations ont porté sur les 194 selles positives génotypées et quantifiées ou négatives issues des collections du CNRVge (les mêmes que pour l'évaluation des ICG). Les résultats de cette évaluation donneront lieu à une publication au cours de l'année 2019 et une communication officielle sera diffusée.

Ces évaluations de trousse de diagnostic nous permettent de donner des conseils appropriés aux laboratoires de microbiologie publics ou privés souhaitant les utiliser.

2.3 TRANSFERT DES TECHNIQUES À D'AUTRES LABORATOIRES

Des réactifs pour le diagnostic des norovirus et des rotavirus sont désormais largement commercialisés. De ce fait, la demande de transfert de techniques se pose rarement. Pour répondre à la demande des laboratoires français, mais aussi étrangers ou d'Outre-Mer, nous fournissons nos procédures et nous assurons un soutien technique à distance. Néanmoins, la demande la plus fréquente des laboratoires français, comme étrangers, est la **fourniture de témoins positifs**. Nous disposons à cet effet d'un stock d'échantillons de selle dont le virus est parfaitement caractérisé.

Avec l'objectif de disposer d'un contrôle externe pour les tests immunochromatographiques, nous avons développé une collection d'antigènes synthétiques sous forme de particules virales de synthèse (VLP) dérivées principalement des norovirus humains dont nous possédons un large panel. Ces VLP correspondent en autres aux principaux génotypes circulant en France, dont les derniers variants (**annexe 2**).

2.4 COLLECTIONS DE MATÉRIELS BIOLOGIQUES

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

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

2.5 ACTIVITÉS D'EXPERTISE DU CNR EN 2019

2.5.1 Investigations virologiques des épidémies de cas groupés

1/ Données épidémiologiques

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

En 2019, nous avons expertisé 214 épidémies dont 170 étaient positives pour un virus entérique **soit 79,4%** (pour 92,4% d'entre elles, un norovirus était retrouvé seul ou associé à un autre virus) (**Tableau 2**). Si on analyse **les 44 épidémies « négatives » (20,6%)**, on constate que pour 17 (38,6%) et 8 (18,2%) d'entre elles nous n'avons qu'un ou deux prélèvements, respectivement (soit dans plus d'un cas sur deux). Or, l'observation des données montre qu'en disposant de **3 à 4 prélèvements par épidémie nous pouvons prouver l'étiologie d'une épidémie quand elle est virale (Tableau 3)**.

Entre 2012 et 2018, Nous avons expertisé 1878 épidémies et détecté un virus pour 1542 d'entre elles soit 82,1%. Nous avons retrouvé un norovirus seul ou associé à d'autres virus pour 90,0% (1388) de ces épidémies positives.

Au total en 2019, 695 échantillons ont été analysés, soit une moyenne de 3,3 ±2,3 échantillons et une médiane de 3 échantillons par épidémie :

- **170 épidémies « positives » comprenant :**
 - **583 prélèvements analysés**, soit une moyenne de 3,4 ±2,4 échantillons et une médiane de 3 échantillons analysés / épidémie,
 - **444 prélèvements positifs**, soit une moyenne de 2,6 ±1,8 positifs et une médiane de 2 positifs / épidémie,
- **44 épidémies « négatives » comprenant 112 prélèvements analysés**, soit une moyenne de 2,6 ±1,9 échantillons et une médiane de 2 échantillons analysés / épidémie.

- rapport (échantillons positifs / analysés)
 - 63,9% des échantillons analysés contenaient au moins un virus,
 - 76,2% des échantillons analysés issus des épidémies « positives » contenaient au moins un virus.

Tableau 2 : Tableau annuel comparatif des prélèvements analysés entre 2012 et 2019

| épidémies | | | infections | virus | | | | | | | | étiologie inconnue |
|------------------|------|-----|---------------------------|-----------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|---------|-----------------------|
| | | | | NoV | SaV | RVA | AdV | AstV | AiV | EV | autres | |
| précédent mandat | 2012 | 338 | mono : 266 mixtes : 13 | 237 13 | 5 4 | 20 6 | 4 4 | 0 2 | 0 2 | 0 1 | - - | 59 (17,5%) |
| | 2013 | 304 | mono : 254 mixtes : 12 | 232 7 | 3 8 | 9 2 | 7 5 | 3 4 | 0 3 | 0 1 | - - | 38 (12,5%) |
| | 2014 | 242 | mono : 174 mixtes : 11 | 156 11 | 5 6 | 6 7 | 3 5 | 3 2 | 0 1 | 1 0 | - - | 57 (23,6%) |
| | 2015 | 225 | mono : 179 mixtes : 19 | 152 19 | 6 7 | 15 6 | 2 3 | 1 3 | 2 5 | 1 1 | - - | 27 (11,8%) |
| | 2016 | 348 | mono : 267 mixtes : 23 | 254 19 | 1 8 | 6 9 | 3 7 | 2 2 | 0 2 | 0 2 | 1* - | 58 (16,9%) |
| mandat en cours | 2017 | 237 | mono : 173 mixtes : 6 | 155 6 | 3 3 | 12 3 | 2 0 | 1 1 | 0 0 | 0 0 | - - | 58 (24,5%) |
| | 2018 | 184 | mono : 135 mixtes : 10 | 119 8 | 8 7 | 7 3 | 1 2 | 0 2 | 0 2 | 0 0 | - - | 39 (21,2%) |
| | 2019 | 214 | mono : 157 mixtes : 13 | 144 13 | 2 8 | 6 2 | 4 2 | 1 0 | 0 2 | 0 5 | - - | 44 (20,6%) |

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

Pour 102 des 170 épidémies « positives », le nombre de prélèvements positifs correspondait exactement au nombre de prélèvements reçus au laboratoire du CNR. Cette proportion est globalement proche de celle observée les trois années précédentes avec 47,7% d'adéquation contre 49,0% (2018), 50,3% (2017), 47,2% (2016) mais plus faible que la moyenne de l'ensemble de la période 2012-2018 (53,9%).

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

| 2018 | | Nombre de prélèvements analysés | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|---|---------------------------------|----|----|----|----|---|---|---|----|----|----|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 12 | 13 | 15 | Total |
| Nombre de prélèvements positifs | 0 | | | | | | | | | | | | 44 |
| | 1 | 34 | 11 | 10 | 5 | | | | | 1 | 1 | | 62 |
| | 2 | | 15 | 11 | 2 | 2 | 1 | | | | | | 31 |
| | 3 | | | 25 | 6 | 4 | 1 | 1 | | | | | 37 |
| | 4 | | | | 17 | 2 | 1 | | | | | | 20 |
| | 5 | | | | | 4 | 1 | | 1 | | | | 6 |
| | 6 | | | | | | 3 | 1 | 1 | | | | 5 |
| | 7 | | | | | | | 4 | 3 | | | | 7 |
| | 8 | | | | | | | | | | | | 0 |
| | 9 | | | | | | | | | | | 2 | 2 |
| Total | | 34 | 26 | 46 | 30 | 12 | 7 | 6 | 5 | 1 | 1 | 2 | 214 |

2/ Principales souches virales caractérisées

Les norovirus (Tableau 4)

- **181 souches de norovirus ont été caractérisées en 2019 dans 157 épidémies dont :**
 - 48 souches de NoV-GI, soit 26,5%
 - **133 souches de NoV-GII, soit 73,5%**
 - pour comparaison, nous avons caractérisé 1603 souches dans 1406 épidémies dont 13,7% de NoV GI et 86,3% de NoV GII sur la période 2012-2018. Cette différence pourrait s'expliquer par le mode de transmission (hydrique, alimentaire ou de personne-à-personne).
- **le génotype GII.4 représentait 45,3% des NoV avec 82 souches** dont :
 - **67 souches GII.P16-GII.4(2012)**, nouveau NoV recombinant prédominant apparu fin 2016,
 - 6 souches recombinantes GII.Pe-GII.4(2012).
- **le génotype GII.17 ne représentait, comme en 2018, encore 4,4% des NoV avec 8 souches** contre 14,6% en 2017. Il s'agit du variant GII.17 Kawasaki-308 qui avait émergé en Europe en 2016 et était devenu temporairement le génotype de norovirus principal en France.
- **les autres génotypes (43 souches) dont divers recombinants (23 souches) associés aux génotypes GII.2, GII.3, GII.5, GII.6 et GII.13** ont circulé sur la période avec des fréquences similaires.
- **les NoV GI ont été fréquemment impliqués dans les épidémies avec une fréquence de 26,5% soit 48 souches** représentant 7 génotypes différents de GI.1 à GI.7 (sur les 9 appartenant au génogroupe I). **Le virus de Norwalk (GI.1) a été le génotype le plus fréquemment retrouvés avec 45,8%** de l'ensemble des souches GI détectées suivi du génotype GI.3 avec 20,8% des souches GI.

Les autres virus détectés en 2019 (28 souches) :

- **rotavirus : 8 souches ont été caractérisées dans 8 épidémies** (dont 1 n'était pas typable). Les principaux génotypes retrouvés étaient **G9P[8]** (4 souches) suivi des génotypes G2P[4] et G3P[8],
- **sapovirus : 10 souches ont été caractérisées dans 10 épidémies** (5 n'étaient pas typables). **SaV GI.2** était le génotype le plus fréquent avec 5 souches détectées (50,0%),
- **adénovirus : 7 souche AdV dont une seule souche entérique** (AdV-F type 41),
- **astrovirus : 1 souches AstV de génotype 1,**
- **aichivirus : 2 souche AiV de génotypes A et B.**

3/ Conclusions sur les virus entériques caractérisés

Comme à chaque saison, les norovirus sont présents dans la majorité (92,4%) des épidémies de cas groupés de gastro-entérites et représentent la majorité (84,6%) des virus isolés des selles analysées. Il s'agit essentiellement de **norovirus du génogroupe II (73,5% des norovirus détectés et 63,6% des virus détectés).**

Jusqu'ici les variants du génotype GII.P4-GII.4 étaient prédominants et se succédaient selon un cycle de 2 à 3 années. Depuis 2017, les variants recombinants prédominent, en particulier le GII.P16-GII.4(2012) qui a émergé en 2016 en France et qui est devenu le génotype majeur avec 37,0% des souches de norovirus caractérisées, suivi par le génotype GIIP16.GII.2 avec 10,0%. Le génotype GII.17 variant Kawasaki-308 qui avait émergé au cours de l'hiver 2015-2016 avec presque 45% des souches de norovirus caractérisées est devenu largement minoritaire avec 4,4% des souches.

Au cours de l'année 2018, les norovirus GI ont été étonnamment plus fréquemment impliqués dans les épidémies avec une fréquence de 29,4%, notamment les GI.1, contre une moyenne de 15,8% au cours des 6 dernières années.

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des souches de norovirus caractérisées entre 2013 et 2019.

| | | 2013 | | | 2014 | | | 2015 | | | 2016 | | | 2017 | | | 2018 | | | 2019 | | | |
|---------------------|--------------------------|------|------|-------|------|------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|------|-------|-------|
| Norovirus | GI | GII | % | GI | GII | % | GI | GII | % | GI | GII | % | GI | GII | % | GI | GII | % | GI | GII | % | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Génogroupe I (GI) | GI non typable | 5 | | 1,9% | 14 | | 7,2% | 4 | | 2,1% | 1 | | 0,3% | 5 | | 2,9% | 4 | | 2,5% | 4 | | 2,2% | |
| | GI.1 | | | | 1 | | 0,5% | | | | 5 | | 1,7% | 1 | | 0,6% | 12 | | 7,5% | 22 | | 12,2% | |
| | GI.2 | | | | 6 | | 3,1% | 5 | | 2,6% | 2 | | 0,7% | 3 | | 1,8% | 5 | | 3,1% | 3 | | 1,7% | |
| | GI.3 | 9 | | 3,4% | 8 | | 4,1% | 8 | | 4,1% | 5 | | 1,7% | 5 | | 2,9% | 1 | | 0,6% | 10 | | 5,5% | |
| | GI.P13-GI.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | 1,1% |
| | GI.4 | 4 | | 1,5% | 2 | | 1,0% | 2 | | 1,0% | 4 | | 1,3% | 2 | | 1,2% | 8 | | 5,0% | 2 | | 1,1% | |
| | GI.5 | | | | | | | 3 | | 1,6% | 4 | | 1,3% | | | | 4 | | 2,5% | 2 | | 1,1% | |
| | GI.P4-GI.5 | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | 0,6% | | | | |
| | GI.6 | 10 | | 3,8% | 2 | | 1,0% | 5 | | 2,6% | 1 | | 0,3% | 1 | | 0,6% | 4 | | 2,5% | 2 | | 1,1% | |
| | GI.P11-GI.6 | | | | | | | | | | | | | 1 | | 0,6% | 2 | | 1,3% | | | | |
| | GI.7 | | | | | | | | | | | | | 1 | | 0,6% | 6 | | 3,8% | 1 | | 0,6% | |
| GI.8 | 1 | | 0,4% | 1 | | 0,5% | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GI.9 | 2 | | 0,8% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Génogroupe II (GII) | GII non typable | | 10 | 3,9% | | 10 | 5,2% | | 5 | 2,6% | | 14 | 4,7% | | 13 | 7,6% | | 4 | 2,5% | | 6 | 3,3% | |
| | GII.1 | | 3 | 1,2% | | 8 | 4,1% | | 17 | 8,9% | | 3 | 1,0% | | | | | | | | | | |
| | GII.2 | | 6 | 2,3% | | 8 | 4,1% | | 16 | 8,2% | | 9 | 3,0% | | 6 | 3,5% | | 3 | 1,9% | | 2 | 1,1% | |
| | GII.P16-GII.2 | | | | | | | | | | | 9 | 3,0% | | 12 | 7,1% | | 16 | 10,0% | | 1 | 0,6% | |
| | GII.3 | | | | | 2 | 1,0% | | | | | 5 | 1,7% | | | | | | | | 2 | 1,1% | |
| | GII.P12-GII.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% | | | | |
| | GII.P16-GII.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% | | | 2 | 1,1% |
| | GII.P21-GII.3 | | 3 | 1,1% | | 2 | 1,0% | | 2 | 1,0% | | 1 | 0,3% | | | | | | | | | | |
| | GII.P30-GII.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | 1,3% | | | 5 | 2,8% |
| | GII.4(1987) | | | | | | | | | | | 1 | 0,3% | | 1 | 0,6% | | | | | | | |
| | GII.4(2006a) | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% | | | | | | | |
| | GII.4(2006b) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% |
| | GII.4(2009) | | 3 | 1,1% | | 4 | 2,1% | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% | | 1 | 0,6% |
| | GII.P4(2004)-GII.4(2012) | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | 1,9% | | | |
| | GII.P4(2009)-GII.4(2012) | | 32 | 12,2% | | 25 | 12,9% | | 47 | 24,4% | | 31 | 10,4% | | 24 | 14,1% | | 1 | 0,6% | | | 2 | 1,1% |
| | GII.4(2012) | | 152 | 58,0% | | 70 | 36,1% | | 47 | 24,4% | | 37 | 12,5% | | 13 | 7,6% | | 1 | 0,6% | | | 5 | 2,8% |
| | GII.P16-GII.4(1987) | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% | | | | |
| | GII.P16-GII.4(2012) | | | | | | | | | | | | 14 | 4,7% | | 50 | 19,4% | | 51 | 31,9% | | 67 | 37,0% |
| | GII.P16-GII.4(2016) | | | | | | | | | | | | | | | 2 | 1,2% | | | | | | |
| | GII.P21-GII.4(2012) | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | 2,5% | | | |
| | GII.P31-GII.4(2012) | | | | | | | | 2 | 1,0% | | 4 | 1,3% | | 3 | 1,8% | | 10 | 6,3% | | 6 | 3,3% | |
| | GII.5 | | 1 | 0,4% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | GII.P22-GII.5 | | 1 | 0,4% | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% |
| | GII.6 | | 12 | 4,6% | | 26 | 13,4% | | 3 | 1,6% | | 5 | 1,7% | | 2 | 1,2% | | 1 | 0,6% | | 4 | 2,2% | |
| | GII.P7-GII.6 | | 1 | 0,4% | | 1 | 0,5% | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% | | 11 | 6,1% |
| | GII.7 | | 2 | 0,8% | | | | | | | | 1 | 0,3% | | 2 | 1,2% | | | | | | 2 | 1,1% |
| | GII.8 | | 1 | 0,4% | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | 2,2% |
| | GII.10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% |
| | GII.12 | | | | | | | | 1 | 0,5% | | | | | | | | | | | | | |
| | GII.13 | | | | | | | | 1 | 0,5% | | 1 | 0,3% | | | | | 2 | 1,3% | | | | |
| | GII.P16-GII.13 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% |
| GII.P21-GII.13 | | | | | | | | 1 | 0,5% | | 1 | 0,3% | | | | | | | | | | | |
| GII.14 | | 3 | 1,1% | | | | | 1 | 0,5% | | 1 | 0,3% | | | | | | | | | | | |
| GII.15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | 1,3% | | | | |
| GII.16 | | | | | | | | | | | 1 | 0,3% | | | | | | 1 | 0,6% | | | | |
| GII.17 | | 1 | 0,4% | | 3 | 1,5% | | 22 | 11,4% | | 133 | 44,8% | | 22 | 12,9% | | 7 | 4,4% | | 8 | 4,4% | | |
| GII.20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 0,6% | |
| GII.21 | | | | | 1 | 0,5% | | | | | 1 | 0,3% | | | | | | | | | | | |
| GII.22 | | | | | | | | | | | 2 | 0,7% | | | | | | | | | | | |
| GIV.1 | | | | | | | | 1 | 0,5% | | | | | | | | | | | | | | |
| total | 31 | 231 | 262 | 34 | 160 | 194 | 27 | 160 | 187 | 22 | 275 | 299 | 19 | 151 | 170 | 47 | 113 | 160 | 48 | 133 | 181 | | |
| % | 12% | 88% | | 18% | 82% | | 14% | 86% | | 7% | 93% | | 11% | 89% | | 29% | 71% | | 27% | 73% | | | |

2.5.2 Bilan virologique avant transplantation de microbiote fécal

Nous participons depuis 2014 à divers programmes de recherche sur le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) par transplantation de microbiote fécal (TMF), notamment avec l'équipe du Pr. Harry SOKOL de l'APHP (étude REBALANCE) et de BIOFORTIS (MérieuxNutriSciences) via un accord cadre.

En 2019, nous avons analysés 25 échantillons de selles pour les CHU de Brest, Clermont-Ferrand, Lyon, Nantes, Saint-Etienne ainsi que le CHG Nord Franche-Comté dans le cadre de TMF. En tout 3 prélèvements ont été disqualifiés par le CNR après la détection d'adénovirus (1) et Aichi virus (1).

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

2.5.3 Investigations virologiques de cas sporadiques

Au cours de l'année 2019, le CNR a procédé à l'analyse de **710 prélèvements** de selles issus de cas de diarrhées sporadiques.

1/ Surveillance de patients immunodéprimés (Figure 1)

Nous avons reçu **429 selles représentant le suivi de 352 patients**. Nous n'avons reçu qu'un seul prélèvement pour 304 patients et 2 prélèvements pour 36 patients, 3 pour 9 patients, 4 pour 3 patients et 15 pour 1 patient. Au total, **122 (28,4%) selles** chez 96 (27,3%) patients **étaient positives** pour 1 virus (87 patients) ou 2 virus (9 patients). Par ordre de fréquence : **55 norovirus (45 patients)**, 15 adénovirus tous types (13 patients), 14 sapovirus (12 patients), 21 rotavirus (9 patients), 16 entérovirus (16 patients), 5 astrovirus (5 patients), 3 astrovirus MLB/VA (3 patients), 2 bocavirus (2 patients) et 2 parechovirus (2 patients).

Les principales souches virales caractérisées chez ces sujets immunodéprimés correspondaient à 86 souches de virus :

- **norovirus : 54 souches (Tableau 5)**
 - 7 souches de NoV-GI
 - **47 souches de NoV-GII**, soit 87,0% des norovirus détectés **dont 5 variants de souches GII.4 (29,8%)**.
- **rotavirus : 21 souches** dont du G9P[8]
- **adénovirus : 15 souches** dont **1 AdV-41** et **14 souches non entériques** (groupes C et D).
- **sapovirus : 14 souches** dont **4 souches GI.2** et **4 souches GII.3**.
- **astrovirus : 5 souches** dont **3 souches de génotype 1**.
- **astrovirus MLB/VA : 3 souches** de génotype MLB-1.

Tableau 5. Détail des typages des 54 souches de norovirus détectés chez des immunodéprimés en 2019

| | Souches de norovirus | nombre | Souches de norovirus | nombre |
|---------------|--------------------------|--------|---------------------------------|----------|
| GI | <i>GI non typables*</i> | 3 | GI.P4-GI.5 | 1 |
| | GI.2 | 1 | GI.7 | 1 |
| | GI.3 | 1 | | |
| Génogroupe II | <i>GII non typables*</i> | 11 | GII.4(2009) | 1 |
| | GII.P16-GII.2 | 5 | GII.P4(2004)-GII.4(2012) | 1 |
| | GII.3 | 3 | GII.4(2012) | 4 |
| | GII.P16-GII.3 | 2 | GII.P31-GII.4(2012) | 3 |
| | GII.P21-GII.3 | 2 | GII.P16-GII.4(2012) | 5 |
| | GII.P30-GII.3 | 1 | | |
| | GII.6 | 2 | GII.P16-GII.13 | 1 |
| | GII.P7-GII.6 | 4 | GII.17 | 1 |

* charge virale trop faible

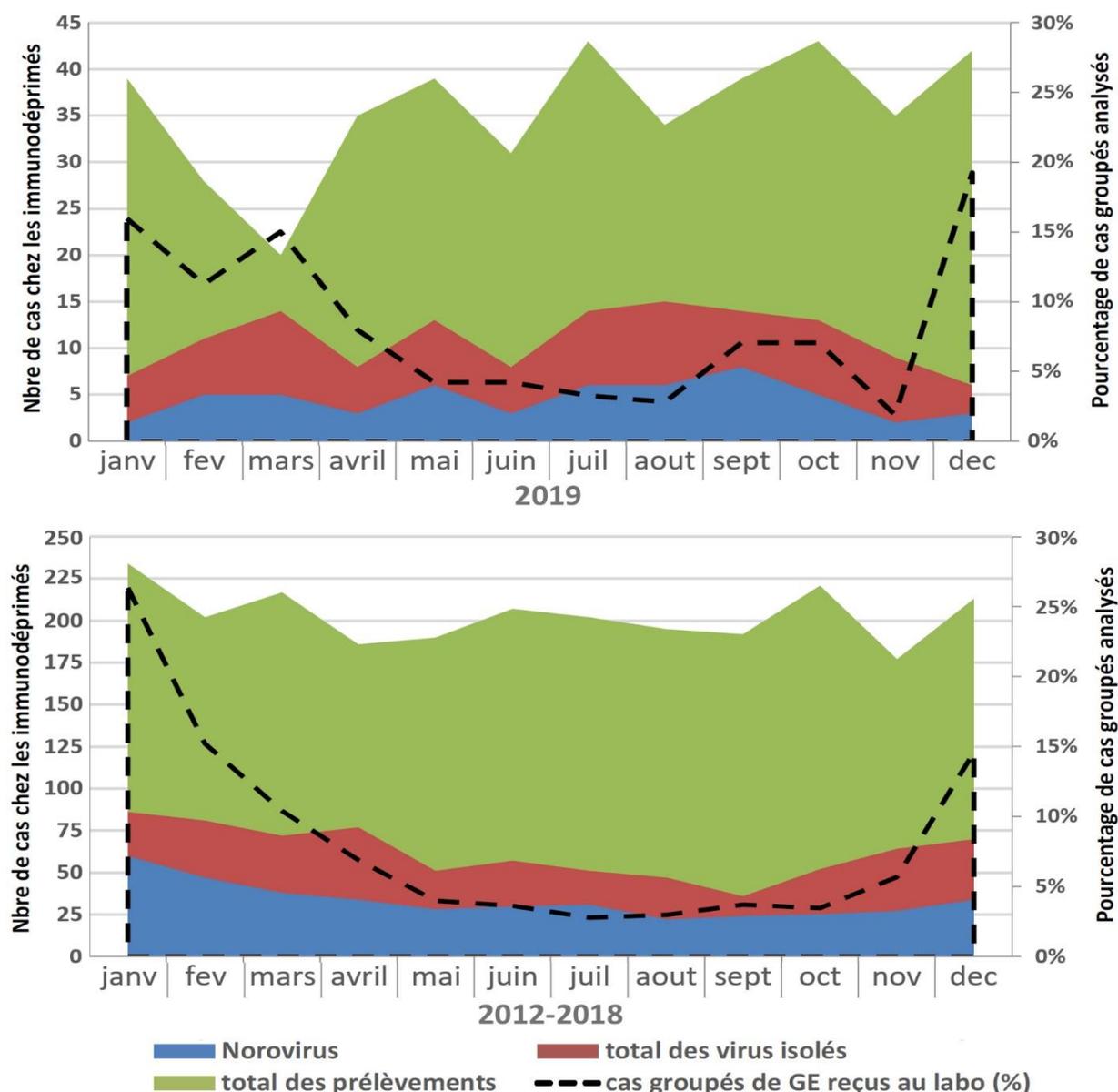


Figure 1 : Répartition saisonnière des virus isolés des selles diarrhéiques des patients immunodéprimés (1 prélèvement/patient) (a) 429 demandes entre janvier 2019 et décembre 2019 ; (b) 2470 demandes entre janvier 2012 et décembre 2018.

2/ Diagnostic de cas sporadiques de diarrhées aiguës

En 2019, nous avons analysés les selles de 236 patients souffrant de diarrhée aiguë et provenant de CHR, CHU ou LABM de toute la France. La moyenne d'âge était à 28,5 ans et la médiane à 25 ans [10 jours ; 93 ans]. En tout 44 patients étaient positifs pour au moins 1 virus entérique dont 4 patients présentaient 2 ou 3 virus dans les selles. En tout, ont été détectés 19 norovirus dont 1 génogroupe IV (**Tableau 6**), 6 rotavirus (dont 2 G2P[4] et 2 G3P[8]), 10 adénovirus (dont 3 AdV entériques de type 41), 4 entérovirus, 3 sapovirus (GII.3), 1 astrovirus (type 1), 1 aichi virus (type B), 1 paréchovirus, 1 bocavirus, 2 virus de l'hépatite E (VHE) et 2 cytomégalovirus (CMV).

Tableau 6. Détail des typages des norovirus détectés dans les cas sporadiques en 2019

| | Souches de norovirus | nombre | Souches de norovirus | nombre |
|-----|----------------------|--------|----------------------------|----------|
| GI | GI non typables* | 2 | GI.P13-GI.3 | 2 |
| | GI.1 | 1 | | |
| GII | GII non typables* | 5 | GII.P16-GII.4(2012) | 2 |
| | GII.3 | 1 | | |
| | GII.P21-GII.3 | 1 | GII.6 | 1 |
| | GII.P30-GII.3 | 1 | GII.17 | 1 |
| GIV | GIV.1 | 1 | | |

* charge virale trop faible

2.5.4 Délai de restitution des résultats

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

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

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

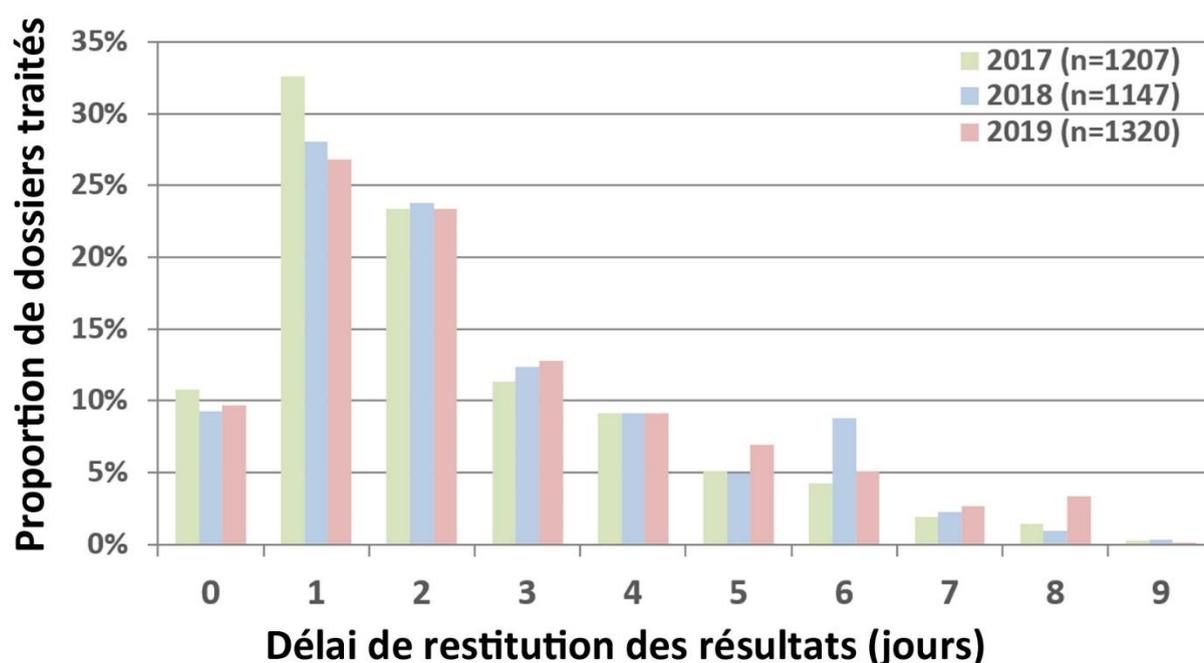


Figure 2 : Délai de restitution des résultats d'analyse de norovirus dans les selles en 2017, 2018 et 2019

2.6 ACTIVITÉS DE SÉQUENÇAGE

Le CNRVge a accès à une plate-forme de séquençage haut-débit comportant actuellement deux séquenceurs Illumina[®] MySeq[®] et NextSeq[®] hébergé sur la Plate-forme de Biologie Hospitalo-Universitaire (PBHU) du CHU de Dijon. Bien qu'une aide à la bio-informatique soit disponible, l'assistant ingénieur du CNRVge a été formé à la bio-informatique pour le traitement des données. Les données sont traitées via le logiciel Galaxy puis à l'aide du logiciel de métagénomique BioNumerics que nous alimentons en continu depuis plusieurs années au sein du CNR. La mise en place des activités de séquençage NGS sur prélèvements de selles est un long processus qui permettra au CNR de répondre à la demande de détection du « virome intestinal » humain. Cette détection sera volontairement limitée à la détection des virus ARN majoritairement responsables des gastro-entérites chez l'homme. De nombreuses interférences existent avec notamment les ARN génomiques de l'hôte mais surtout les ARN ribosomiaux des microbiote et mycobiote intestinaux. Le CNR est actuellement en capacité d'effectuer des analyses de type NGS pour les norovirus et les rotavirus dans les selles mais elles seront prochainement disponibles pour les analyses pan-virales dans les selles.

3. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE

Éléments clefs de l'activité de surveillance du CNRVge en 2019 :

- surveillance du réseau national rotavirus :
 - participation de 14/18 CHU/CHG
 - analyses de 628 prélèvements de selles : poursuite de la diffusion du génotype G9P[8] (49,1%) suite à sa réémergence en 2014-2015 et diffusion du G3P[8] « equine-like » (32,0%).
- surveillance des épidémies :
 - analyses de 210 épidémies : survenue de novembre à mars/avril
 - 129 (61,4%) des épidémies sont survenues dans les EHPAD
 - transmission le plus fréquemment de personne-à-personne (44,8%)

3.1 DESCRIPTION DES RÉSEAUX PARTENAIRES

3.1.1 Réseau de surveillance des cas groupés de gastro-entérites

1/ Réseaux de surveillance

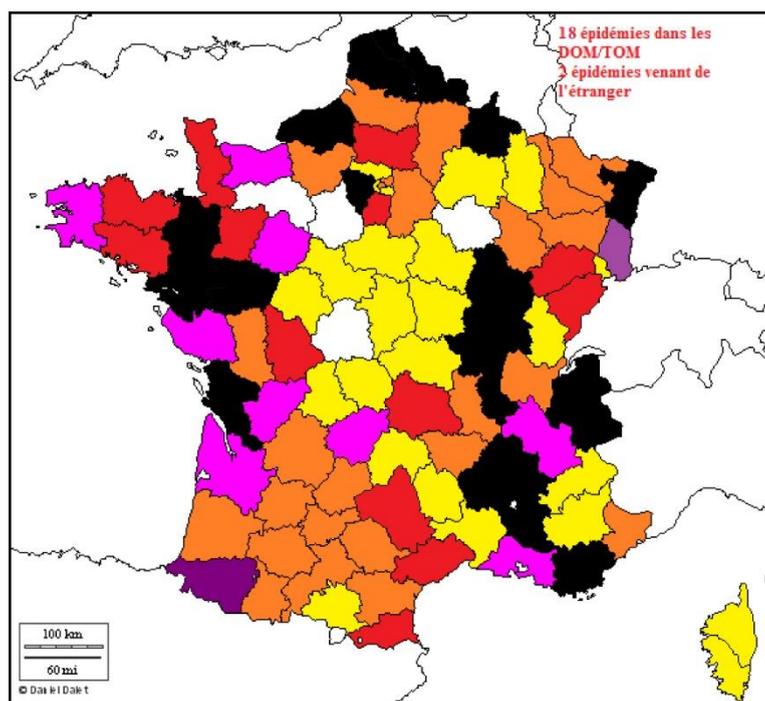
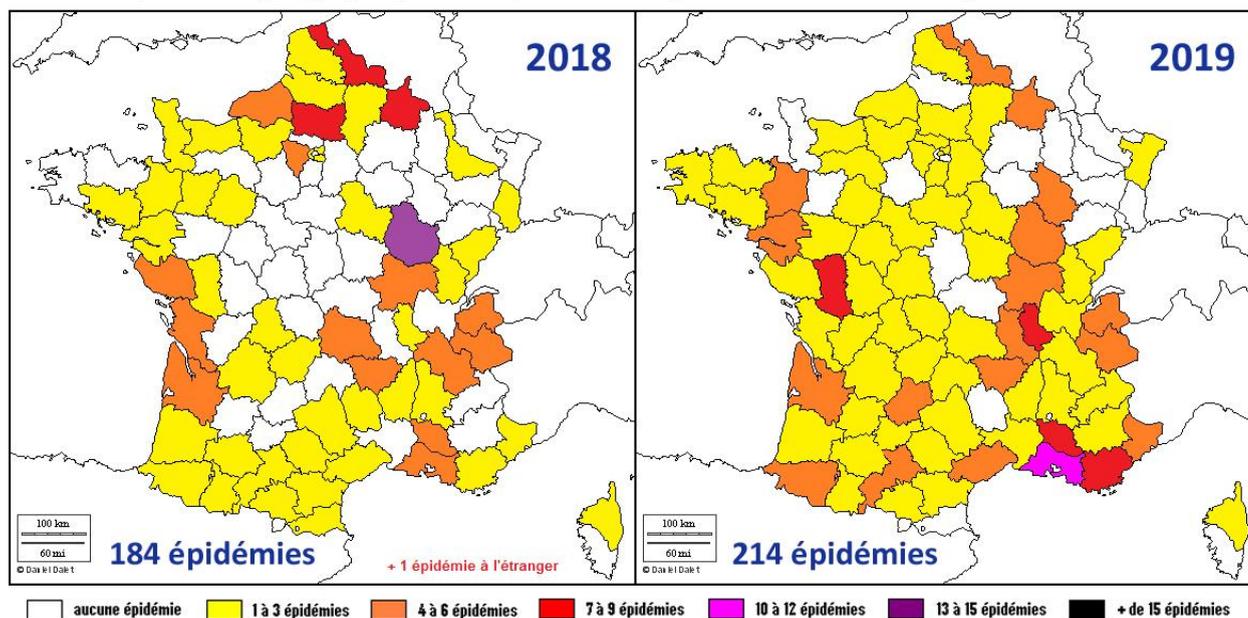
- **Santé Publique France (SPF)** et les **CIRE**, les **Délégations territoriales des ARS** et d'autre part les **services hospitaliers**, les **CLIN** ou les **services d'hygiène des établissements de soins**.

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

- **Réseau Sentinelles** : nos interlocuteurs en 2018 étaient Thomas GORONFLOT et Lucie FOURNIER.
- **Les autres laboratoires de référence** :
 - **IFREMER** – Centre de Nantes (Dr. Françoise LE GUYADER) : laboratoire de référence pour les virus entériques dans les **produits de la mer**. Ce laboratoire fait partie du même réseau européen que le nôtre (NoroNet). Nous collaborons étroitement et en temps réel pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est un produit de la mer (alerte, investigation, comparaison des souches etc...).
 - **ANSES – Unité de virologie des Aliments et de l'eau**, Maisons-Alfort (Dr. Sylvie PERELLE) : laboratoire de référence pour **l'eau et les aliments**. Nous collaborons avec ce laboratoire pour tous les cas groupés de gastro-entérites dont l'origine suspectée est alimentaire ou hydrique (alerte, investigation, comparaison des souches...).
 - **ANSES – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy**, 40, Rue Lionnois F-54000 NANCY (Dr Benoît GASSILLOUD).
 - **Centre National de Référence Virus des hépatites à transmission entériques (Hépatites A et E)**. AP-HP - Paris Paul Brousse (Pr. Anna- Maria ROQUE-AFONSO) et CHU de Toulouse (Pr. Jacques IZOPET). Nous collaborons étroitement avec ces CNR, notamment pour les épidémies d'origine hydrique ou alimentaire.
- **Centre National de Référence Entérovirus et Paréchovirus**, Hospices Civils de Lyon (Pr. Bruno LINA) et CHU de Clermont-Ferrand (Pr. Cécile HENQUELL). Nous collaborons étroitement avec les CNR : nous assurons la détection dans les selles, en cas de positivité le virus ou le prélèvement est adressé au CNR des entérovirus et paréchovirus pour une caractérisation moléculaire et une enquête virologique spécifique.

2/ Provenance des échantillons

Répartition géographique des épidémies reçues au CNR Virus des gastro-entérites



Répartition géographique des épidémies reçues au CNR des virus entériques :

de 2012 à 2017
1694 épidémies

Figure 3 : Répartition géographique des épidémies reçues. (a) bilan de l'activité du CNR en 2018 et 2019 et (b) bilan de l'activité entre 2012 et 2017.

À noter que tous les départements nous ont envoyé des prélèvements au moins une fois depuis 2012 à l'exception de l'Aube (10) et l'Eure-et-Loire (28).

3.1.2 Réseau de surveillance des gastro-entérites à rotavirus

Une surveillance moléculaire des souches de rotavirus en milieu pédiatrique avait été mise en place en prévision de la prochaine disponibilité de vaccins anti-rotavirus. Depuis 2004 et surtout l'hiver 2006 nous avons développé un réseau de surveillance épidémiologique et moléculaire des rotavirus comprenant 11 CHU de province, 3 établissements de l'Assistance Publique de Paris (hôpitaux de Saint Vincent de Paul-Necker, Robert Debré et Trousseau) et 2 CHR (Charleville-Mézières et Orléans). Depuis 2017, le CHU de Toulouse et le CHR de Cahors ont rejoint le réseau rotavirus. Ce réseau national est connecté à un plus large réseau européen, le réseau **EuroRotaNet** (Figure 4).

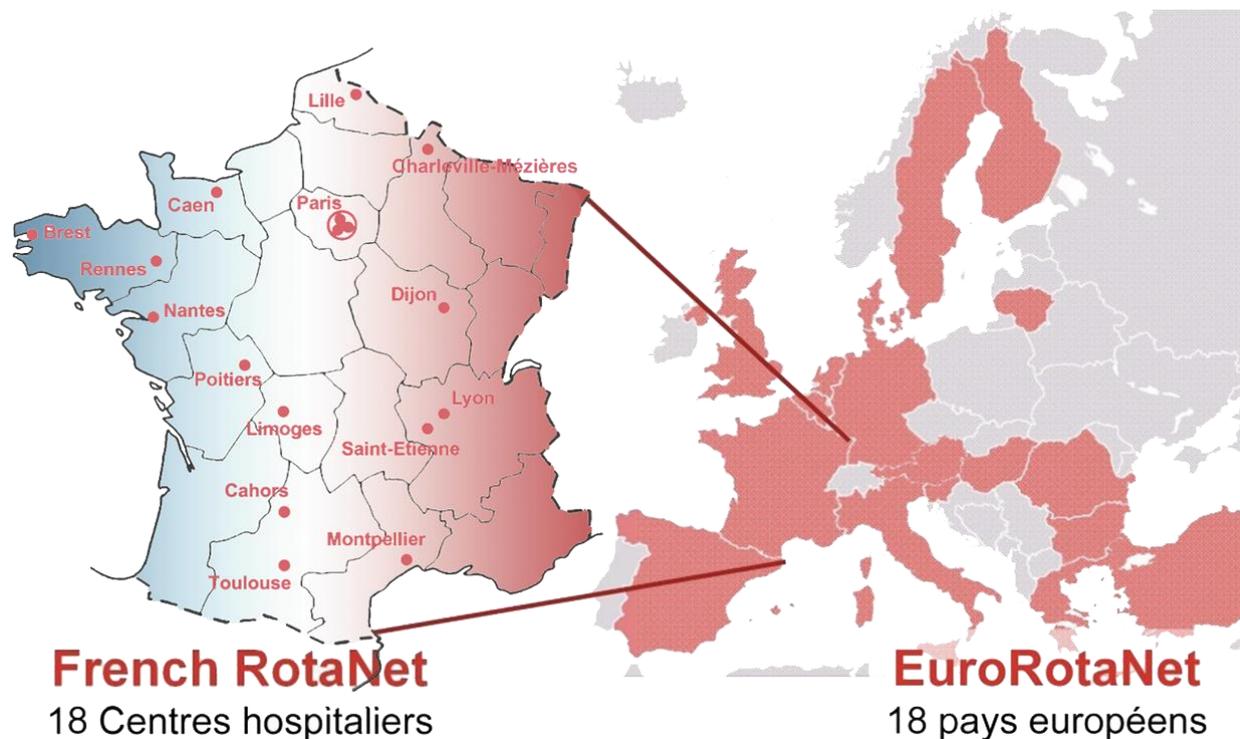


Figure 4 : Répartition des centres participant au réseau national rotavirus en 2018.

Participation des CHU/CHRU de Brest, Caen, Dijon, Lille, Limoges, Lyon, Montpellier, Nantes, Paris (Necker-Enfants Malades, Robert-Debré, Armand-Trousseau), Poitiers, Rennes, Saint-Etienne, Toulouse et des CH de Cahors, Charleville-Mézières, Lille (GHICL).

3.2 SURVEILLANCE DE L'ÉVOLUTION ET DES CARACTÉRISTIQUES DES INFECTIONS

3.2.1 Caractéristiques épidémiologiques des cas groupés

1/ Aspect saisonnier des épidémies

La saisonnalité hivernale est très marquée pour les épidémies survenant en EHPAD et hôpitaux, au contraire de celles survenant dans les centres pour adultes ou lors de réceptions (Figure 5). On retrouve cette même différence si l'on compare les épidémies transmises de personne-à-personne (hivernales) de celle transmises par les aliments ou l'eau (toute l'année).

En 2019, 64,3% des épidémies analysées au CNR sont survenues entre novembre et mars (69,8% entre 2012 et 2018) et 79,0% entre octobre et avril (80,8% entre 2012 et 2018). Cette forte saisonnalité automno-hivernale concerne le plus souvent les épidémies survenant en établissements de soins et non pas celles survenant en collectivités ou dans les restaurants qui ont lieu toute l'année. Cette observation est comparable aux différences de saisonnalité entre les épidémies transmises de personne-à-personne et celles d'origine alimentaire ou hydriques. Exceptionnellement en 2019, de nombreuses (16) épidémies sont survenues en restauration au cours des fêtes de fin d'année (décembre) et pour lesquelles des fruits de mer (huîtres dans 15/16 cas ; 93,8%) ont été incriminés.

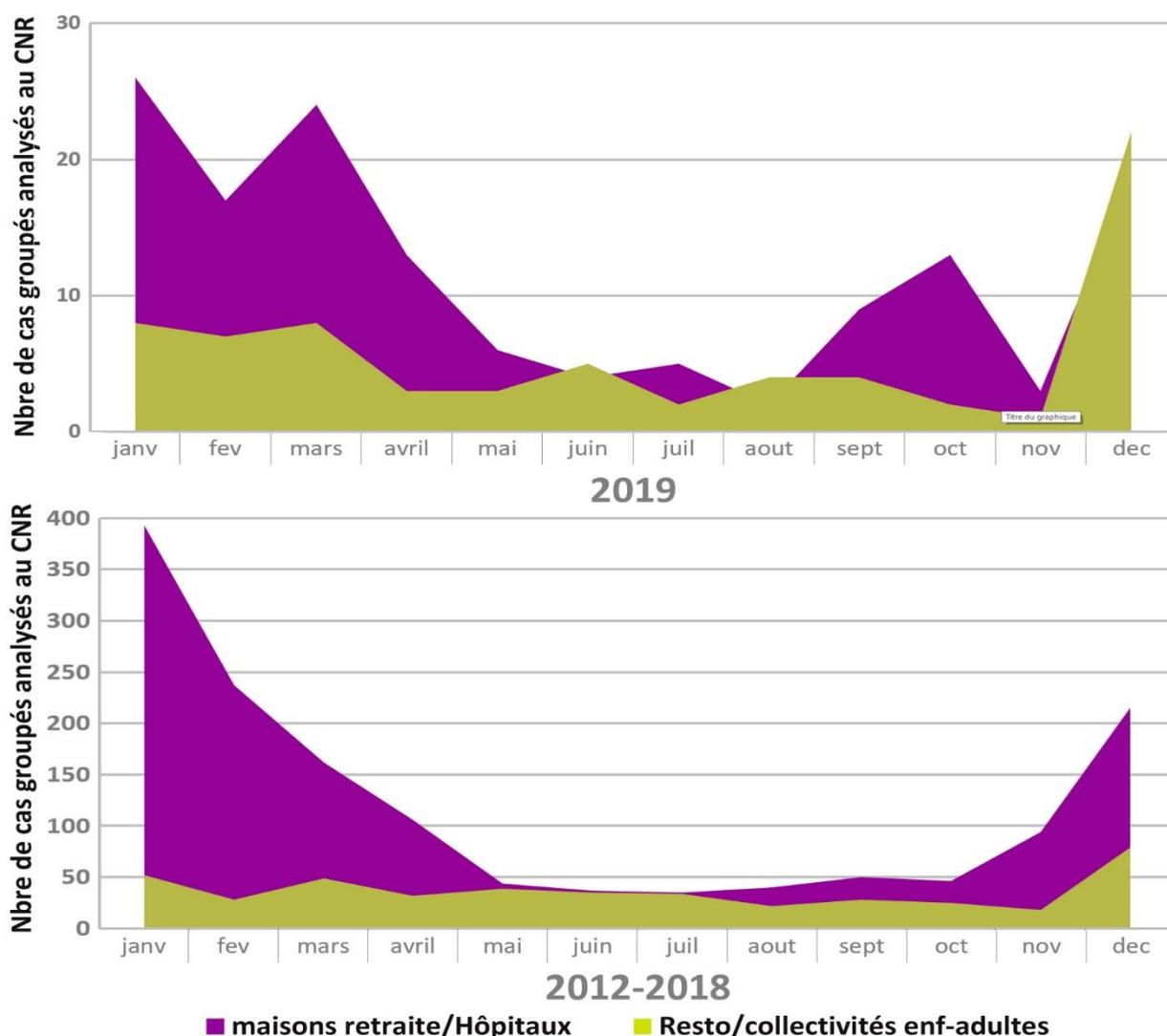


Figure 5 : Répartition temporelle des cas groupés pris en charge par le CNR en fonction de l'origine de l'épidémie. (a) bilan de l'activité du CNR en 2019 et (b) bilan de l'activité entre 2012 et 2018.

2/ Sites et modes de transmission

Les modes de transmission observés en 2019 sont globalement similaires à l'ensemble de la période 2012-2018 avec toutefois une augmentation des transmissions d'origine alimentaire (Tableau 7).

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

| sites/transmissions | | pers-à-pers | inconnu | aliments | hydrique | Total |
|---------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|--------------|
| 2019 | EHPAD | 79 (37,6%) | 36 (17,1%) | 13 (6,2%) | 1 (0,5%) | 129 (61,4%) |
| | hôpitaux | 8 (3,8%) | 2 (1,0%) | 2 (1,0%) | 0 - | 12 (5,7%) |
| | réception | 0 - | 1 (0,5%) | 34 (16,2%) | 0 - | 35 (16,7%) |
| | centre enfants | 4 (1,9%) | 3 (1,4%) | 7 (3,3%) | 1 (0,5%) | 15 (7,1%) |
| | centre adultes | 3 (1,4%) | 5 (2,4%) | 10 (4,8%) | 1 (0,5%) | 19 (9,0%) |
| Total | | 94 (44,8%) | 47 (22,4%) | 66 (31,4%) | 3 (1,1%) | 210 |
| 2012-2018 | EHPAD | 826 (44,5%) | 379 (20,4%) | 75 (4,0%) | 9 (0,5%) | 1289 (69,5%) |
| | hôpitaux | 107 (5,8%) | 75 (4,0%) | 18 (1,0%) | 0 - | 200 (10,8%) |
| | réception | 10 (0,5%) | 7 (0,4%) | 177 (9,5%) | 0 - | 194 (10,5%) |
| | centres enfants | 39 (2,1%) | 16 (0,9%) | 49 (2,6%) | 6 (0,3%) | 110 (5,9%) |
| | centres adultes | 15 (0,8%) | 15 (0,8%) | 33 (1,8%) | 0 - | 63 (3,4%) |
| Total | | 997 (53,7%) | 492 (26,5%) | 352 (19,0%) | 15 (0,8%) | 1856 |

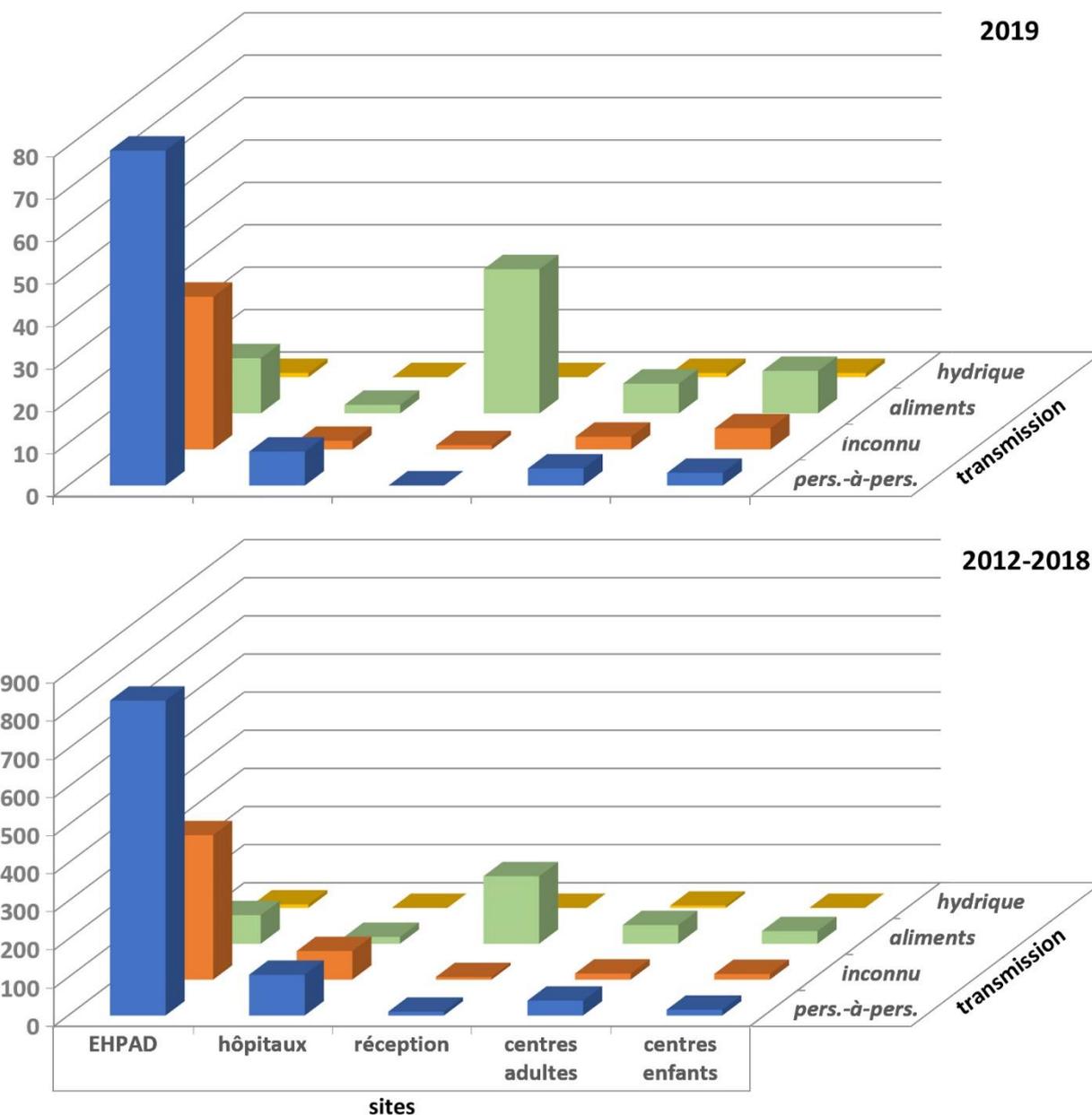


Figure 6 : Relation entre type d'établissement et le mode de transmission.
 (a) bilan de l'activité du CNR en 2019 et (b) bilan de l'activité entre 2012 et 2018.

– **Site ou établissement :**

En 2019, la majorité des 210 épidémies est survenue dans des EHPAD : 129 soit 61,4%. Les autres sites concernés ont été essentiellement des réceptions/banquets (35 ; 16,7%). Globalement, ces résultats sont comparables à ceux constatés au cours de la période 2012-2018, mises à part les nombreuses épidémies d'origine alimentaire (huitres) des fêtes de fin d'année de 2019 pour lesquelles le CNR a été sollicité.

– **Mode de transmission :**

En 2019, le mode de transmission de **personne-à-personne, le plus fréquent, est incriminé dans 94 épidémies soit 44,8% des cas.** Cependant, le mode de transmission restait inconnu ou non renseigné pour près d'un quart des épidémies (47 ; 22,1%). Une origine alimentaire a été à l'origine de 66 épidémies (31,4%). Les épidémies d'origine hydrique restent marginales (3 ; 1,1%). Globalement, ces résultats sont comparables à ceux constatés au cours de la période 2012-2018 avec, proportionnellement et de manière significative une augmentation du nombre de cas à transmission d'origine alimentaire (+12,4 points).

– Relation site et mode de transmission :

En 2019, la majorité des épidémies est advenue dans des EHPAD ou des services hospitaliers mais proportionnellement avec un léger recul par rapport à la période 2012-2018 (67,1% vs. 80,3%). Le principal mode de propagation des virus entériques dans ces établissements était une transmission de personne-à-personne (61,7% en 2019 vs. 62,7% de 2012 à 2018). Cependant, les causes inconnues restent encore fréquentes (27,0% en 2019 vs. 30,5% de 2012 à 2018). L'origine alimentaire y est toutefois retrouvée dans quelques épidémies (10,6% en 2019 vs. 6,2% de 2012 à 2018).

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 (respectivement 97,1%, 46,7% et 52,6% en 2019 vs. 91,2%, 44,5% et 52,4% de 2012 à 2018).

3.2.2 Caractéristiques virologiques des épidémies de gastro-entérites à rotavirus en France : bilan de la surveillance de la saison 2018-2019

Dix-huit centres participent à cette étude depuis 2006 et **14 centres ont envoyé des prélèvements durant la saison 2018-2019** : Brest, Caen, Cahors, Dijon, Grenoble, Lille, Limoges, Lyon, Montpellier, Paris (Necker et Trousseau), Poitiers, Rennes, Saint-Etienne et Toulouse.

Au total, nous avons reçu et analysé **628 prélèvements durant la saison 2018-2019 (soit 10.945 prélèvements de rotavirus « génotypés » entre 2006 et 2019)**

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, les pics des infections de la saison 2018-2019 sont apparus en janvier et avril, et les quatre mois durant lesquels il y avait le plus de prélèvements positifs étaient janvier-février-mars-avril (Figure 7).**

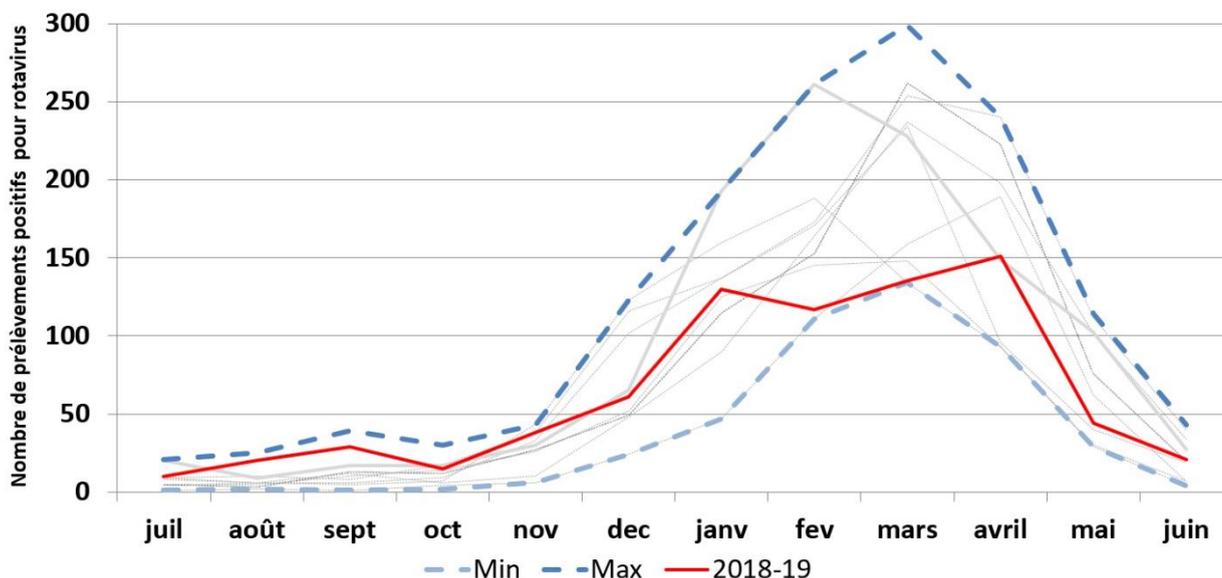


Figure 7 : Distribution temporelle des infections à rotavirus pour la saison 2018-19 comparée aux maximums et minimums des saisons de 2006 à 2019.

Globalement, il y a de différence d'une année à l'autre puisque le pic des infections a lieu en mars pour 9 saisons sur 13 de 2006 à 2019, les autres ayant eu lieu en février pour les saisons 2007-08 et 2016-17, et en avril pour 2006-07 et 2018-19. Les mois les plus importants sont février-mars-avril pour 8 saisons (2006-07, 2009-10, de 2011 à 2016 et 2017-18) et janvier à mars pour les 5 autres (2007-08, 2008-09, 2010-11, 2016-17 et 2018-19).

2/ Analyse de la répartition des combinaisons génotypiques G/P

Saison 2018-2019 (Figure 8)

En tout 628 prélèvements ont été caractérisés au cours de la saison 2018-19. En comparaison avec l'étude globale, les résultats importants de cette dernière saison sont :

- le génotype G9P[8] poursuit sa diffusion après sa réémergence au cours de la saison 2014-15 (32,1%) et surtout au cours des trois précédentes saisons (2015-16, 2016-17 et 2017-18) avec de fortes fréquences de détection (64,1%, 74,1% et 47,0%, respectivement). Ce génotype représentait au cours de la dernière saison 49,1% des souches circulantes de rotavirus. Ces G9P[8] appartiennent au lignage III pour le génotype G9 et au lignage P[8]-3 pour le génotype P[8]. Ces souches diffèrent peu de celles détectées au cours de la dernière décennie et notamment d'avec celles de la saison 2004-2005 qui a vu ce génotype émerger en France.
- le génotype G3P[8] poursuit son grand retour dans l'épidémiologie des rotavirus en France après la saison 2017-18 (21,7%) avec près d'un tiers (32,0%) des souches génotypées contre 2,7% au cours de la saison 2016-17. Une telle fréquence n'avait pas été constatée depuis la saison 2003-2004. Nos travaux sur ces nouvelles souches montrent que cette réémergence est due à une souche dite « *equine-like* » possédant ainsi des antigènes modifiés. Ces souches seraient des recombinants humain-équin alliant un segment VP7 de type G3 d'origine équine à une constellation de gènes d'origine humaine dont un segment VP4 de type P[8] (soit un profil DS1-like : G3-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1).
- les autres génotypes importants sont :
 - G1P[8] (5,9%) très en retrait cette saison masi qui demeure néanmoins le premier génotype toutes saisons confondues.
 - G2P[4] (2,8%) qui conserve un niveau moyen bas en terme de fréquence (5,9% sur la période 2006-2019).
 - G12P[8] (2,8%) qui reste en nette diminution depuis son émergence ces 5 dernières saisons.
- à noter l'absence de détection du génotype G4P[8].

La persistance d'un certain nombre de souches non ou partiellement typables (1,7%) 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 mais dont les charges virales sont généralement très faibles.

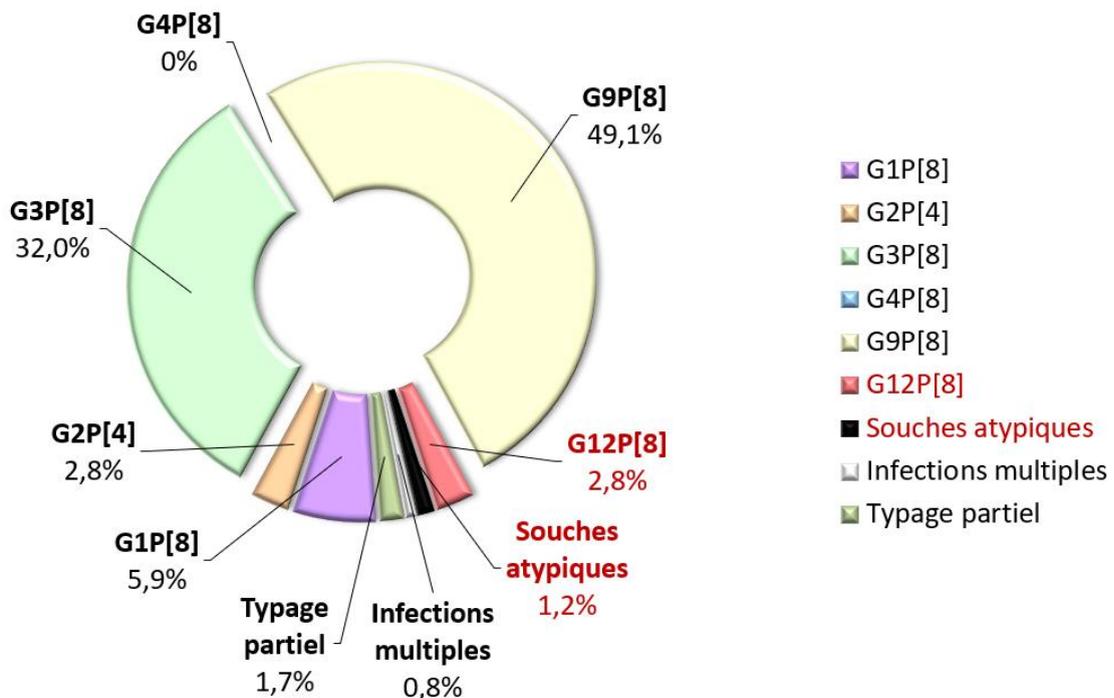


Figure 8 : Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant la saison 2018-2019 (628 prélèvements)

Bilan 2006-2019 (Figure 9)

Le recueil des prélèvements sur l'ensemble des saisons 2006-2007 à 2018-2019 est de **11159 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 douze années : **G1P[8] (47,1%)** suivie de **G9P[8] (29,3%)**, cumulant à elles seules **76,4% des souches détectées**, puis **G3P[8] (9,2%)** et **G2P[4] (5,9%)**.

Les autres combinaisons d'importance significative étaient **G4P[8] (2,1%)** et **G12P[8] (1,6%)**. Ainsi, les six combinaisons génotypiques désormais classiques (G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] et G12P[8]) représentaient 95,2% des souches caractérisées. Les **génotypes ou combinaisons atypiques** (incluant notamment quelques associations de génotypes G et P classiques) représentent **1,7 %** et les infections mixtes 1,6%.

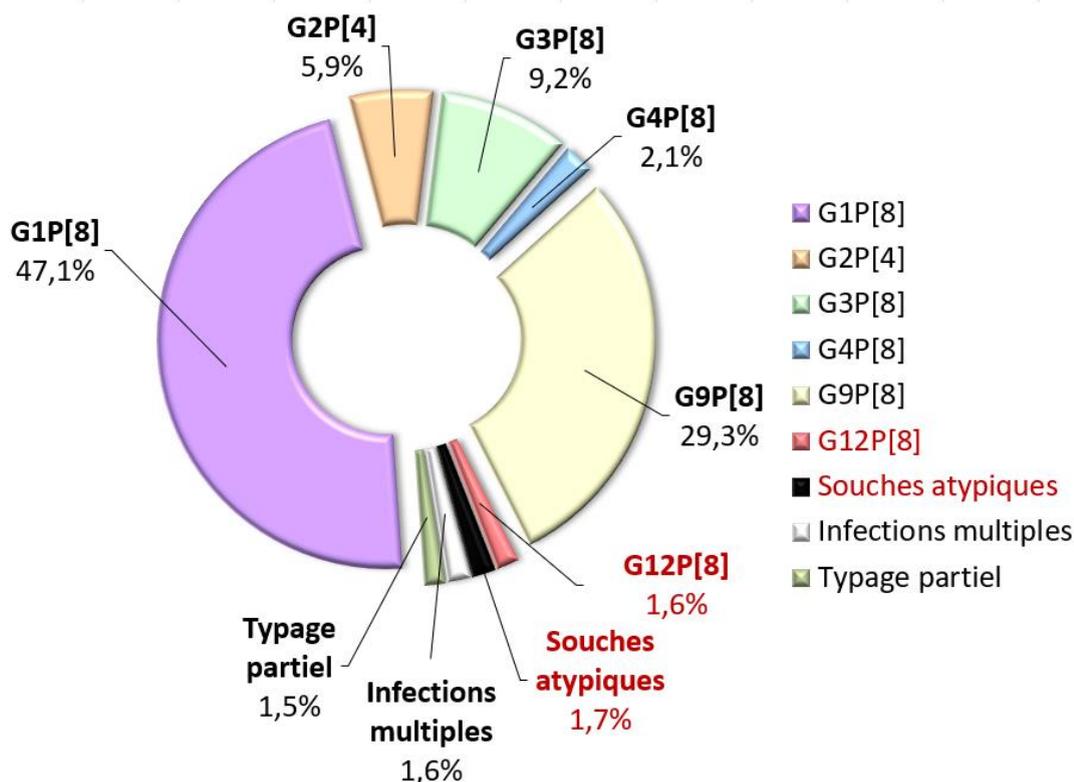


Figure 9 : Distribution des combinaisons de génotypiques G et P des rotavirus détectés en France durant l'ensemble de la surveillance 2006-2019 (11159 souches)

3/ Analyse de la répartition des génotypes G ou P

L'analyse séparée des **génotypes G** (Tableau 8, Figures 10 et 11) montre une répartition des souches semblable à celle observée pour les combinaisons G/P. Les génotypes G inhabituels détectés en France en 2018-2019 ont été **G8** (9 souches, 1,4%) et **G6** (1 souche, 0,2%). Aucun génotype G5 ou G10 (souches d'origine bovine) n'a été caractérisé durant la saison 2018-2019.

Les faits marquants de cette saison 2018-2019 est

- la **réémergence à une fréquence élevée des rotavirus de génotype G3** avec 33,8% de détection (212 souches)
- la **persistance à une fréquence très élevée des rotavirus de génotype G9** avec 51,4% de détection (322 souches),

Le **génotype G12** (20 souches (3,2%)) semble conserver un taux de circulation proche de celui constaté lors de son émergence au cours de la saison 2011-2012. Cette émergence du génotype G12 (associé au génotype P[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 le Pays Basque.

Tableau 8 : Distribution et prévalence par année des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2019 et durant la saison 2018-2019.

| | Nombre de souches de rotavirus génotypées | | |
|------------------------------------|--|-----------------------------------|-------------------------------------|
| | 2006-2018 <i>n</i> =10539 | 2018-2019 <i>n</i> =620 | 2006-2019 <i>n</i> =11159 |
| Génotypes G ^a | | | |
| G1 | 5187 (51,3) | 38 (6,1) | 5225 (46,8) |
| G2 | 674 (6,4) | 18 (2,9) | 692 (6,2) |
| G3 | 903 (7,7) | 212 (34,0) | 1111 (10,0) |
| G4 | 278 (2,6) | 3 (0,5) | 281 (2,5) |
| G6 | 22 (0,2) | 1 (0,2) | 23 (0,2) |
| G8 | 16 (0,1) | 9 (1,4) | 25 (0,2) |
| G9 | 3125 (28,6) | 322 (51,7) | 3443 (30,9) |
| G10 | 2 (<0,1) | 0 - | 2 (<0,1) |
| G12 | 169 (1,4) | 20 (3,2) | 189 (1,7) |
| Infections mixtes (types G) | | | |
| G1 + G2 | 20 (0,2) | 0 - | 20 (0,2) |
| G1 + G3 | 22 (0,2) | 0 - | 22 (0,2) |
| G1 + G4 | 10 (0,1) | 0 - | 10 (0,1) |
| G1 + G9 | 69 (0,6) | 0 - | 69 (0,6) |
| G2 + G3 | 1 (<0,1) | 0 - | 1 (<0,1) |
| G2 + G4 | 1 (<0,1) | 0 - | 1 (<0,1) |
| G2 + G9 | 5 (0,1) | 0 - | 5 (<0,1) |
| G3 + G4 | 2 (<0,1) | 0 - | 2 (<0,1) |
| G3 + G9 | 24 (0,2) | 4 (0,6) | 28 (0,3) |
| G4 + G9 | 9 (0,1) | 0 - | 9 (0,1) |
| Génotypes P ^a | | | |
| P[3] | 5 (0,1) | 0 - | 5 (<0,1) |
| P[4] | 645 (6,3) | 22 (3,5) | 667 (6,1) |
| P[5] | 1 (<0,1) | 0 - | 1 (<0,1) |
| P[6] | 70 (0,7) | 3 - | 73 (0,7) |
| P[8] | 9510 (92,3) | 593 (95,6) | 10103 (92,7) |
| P[9] | 27 (0,3) | 0 - | 27 (0,2) |
| P[14] | 9 (0,1) | 2 (0,3) | 11 (0,1) |
| Infections mixtes (types P) | | | |
| P[4] + P[8] | 37 (0,4) | 0 - | 37 (0,3) |

^a Inklus les infections multiples

Les **génotypes P** (Tableau 8 et Figures 10 et 11) sont peu diversifiés et très largement dominés par le génotype **P[8]** (globalement 92,8% entre 2006-2019 et 95,6% en 2018-2019), alors que le génotype **P[4]** représente globalement 6,1% entre 2006-2018 et 3,5% 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 2019, les génotypes atypiques en France étaient représentés par **P[3], P[5], P[6], P[9] et P[14]** ce qui représentait 117 (1,1%) souches. Durant la saison 2018-2019 nous avons détecté uniquement le **génotype P[6] (3 souches) et P[14] (2 souches) soit 1,1% du total des souches caractérisées.**

La constance et l'hégémonie de la prévalence du génotype P[8] entre 2006 et 2019 est rassurante et doit être soulignée s'agissant de l'efficacité de la vaccination puisque les deux vaccins commercialisés possèdent cette valence antigénique dans leur composition.

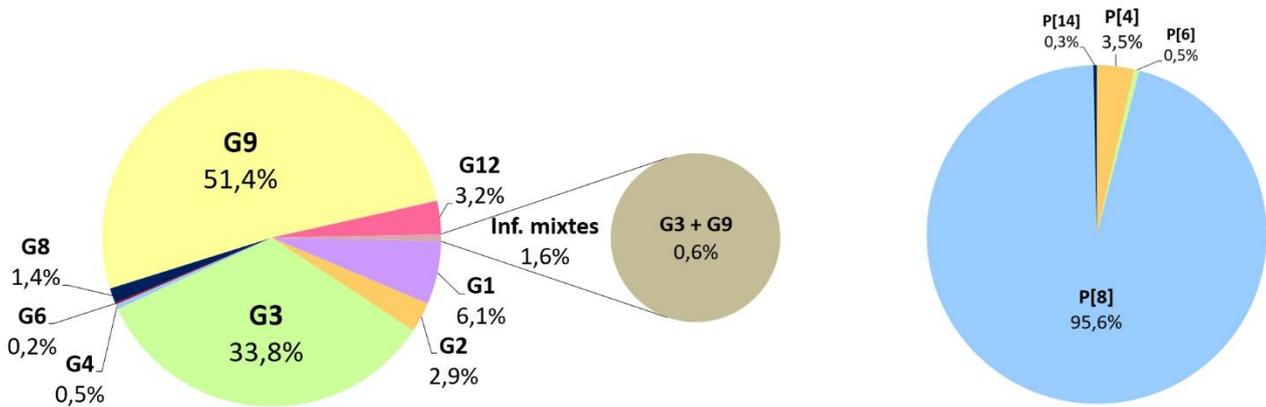


Figure 10 Distribution des génotypes G et P détectés en France pour la saison 2018-2019

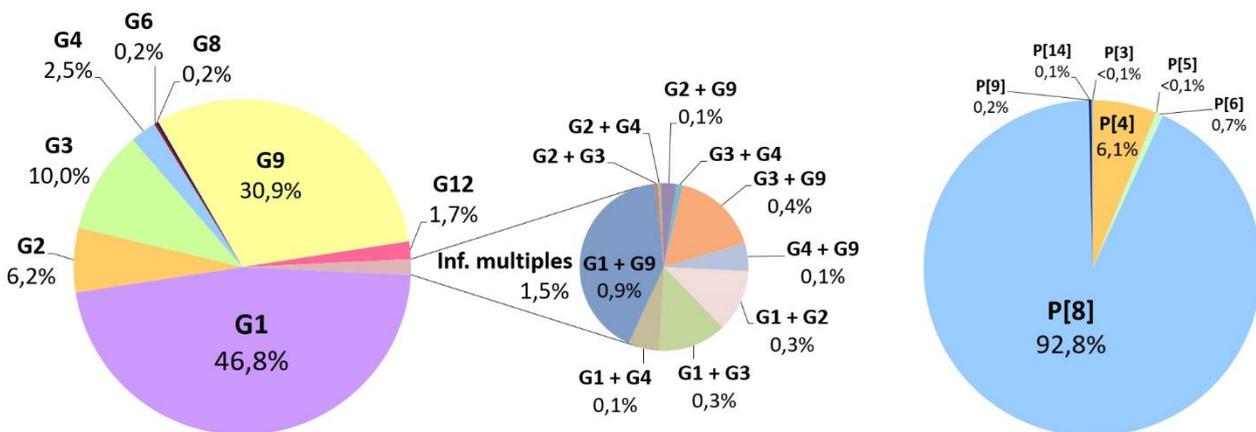


Figure 11. Distribution des génotypes G et P détectés en France entre 2006 et 2019

4/ Variations temporo-spatiales des combinaisons de génotypes G/P

a/ Variations des génotypes G/P entre 2006-2019 (Figure 12)

Évolution des génotypes G/P « classiques »

L'évolution des génotypes G/P durant cette période de surveillance est marquée par :

- la **prédominance du génotype G9P[8]** : après sa brutale émergence en 2004-2005 (65,0%), sa fréquence diminuait régulièrement de 25,1% à 6,3% en 2012-2013. Sa réapparition à un taux élevé au cours des saisons 2013-2014 et 2014-15 (21,1% puis 30,9%) puis sa réémergence au cours des saisons 2015-16 et 2016-17 (66,0% et 74,1%, respectivement) et son maintien à des fréquences élevées au cours des saisons 2017-18 et 2018-19 (47,0% et 49,1%) soulève des questions quant à sa circulation et son évolution. L'émergence brutale observée en 2004-2005 avait été un phénomène observé sur tout le continent mais les récentes données européennes montrent que la forte prévalence des G9P[8] semble concerner plus particulièrement la France. La forte prévalence des G3P[8] ne semble pas non plus modifier la circulation des G9P[8].
- Le **génotype G1P[8]** stable depuis plus de 10 ans a vu sa fréquence chuter avec la réémergence des G9P[8] (entre 53,0% et 73,1% entre 2005 et 2015 ; entre 9,0% et 16,8% en 2015 et 2018 ; et seulement 5,9% en 2018-2019). Ce phénomène a déjà été observé en 2004-2005 mais il n'avait duré qu'une seule saison. Les résultats des génotypages de la saison prochaine 2019-2020 seront à regarder de près avec soit une réémergence des G1P[8] au détriment des G9P[8] et/ou des G3P[8], soit une persistance des G9P[8] et/ou des G3P[8] à de hauts niveaux de prévalence.

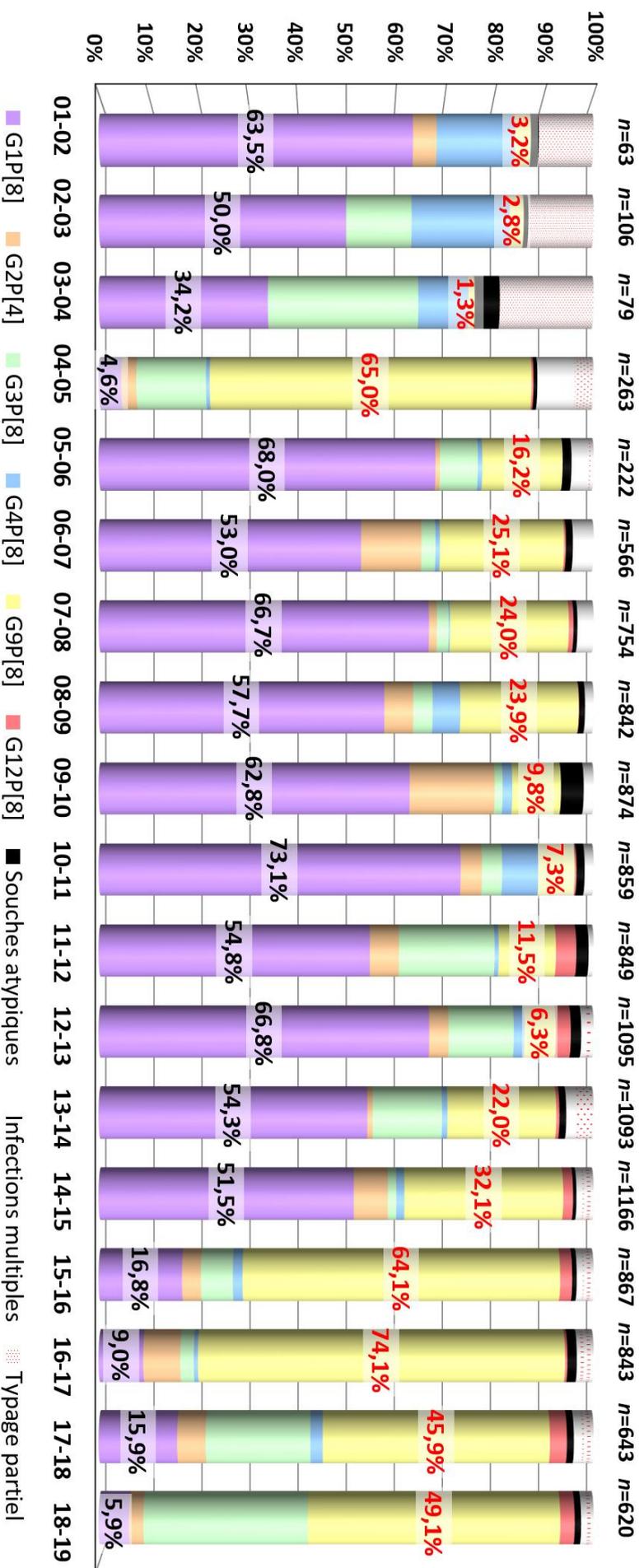


Figure 12. Évolution des combinaisons de génotypes G/P de rotavirus en France entre 2001 et 2019
(Noter que la période 2001 à 2006 est une étude limitée.)

- le **génotype G3P[8]** : jusqu'ici sa fréquence restait relativement faible avec quelques pics de détection supérieur à 20% au cours des saisons 2003-2004 et 2011-2012. Les saisons 2017-2018 et 2018-19 semblent confirmer une réémergence de ce génotype qui sera à confirmer au cours de la prochaine saison.
- le **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 quelques saisons creuses (0,6% à 2,6% de détection), ce génotype a été détecté à une fréquence de 2,8% (18 souches) en 2018-2019 confirmant la persistance de la circulation des rotavirus G12 en France. Aucune donnée ne permet actuellement de savoir s'il y aura une variation de la fréquence ou une stabilisation de la circulation des G12P[8] à ce niveau de fréquence.
- les autres génotypes **G2P[4]** et **G4P[8]** évoluent de façon cyclique selon les saisons : G2P[4] (entre 1,6% et 17,2%) et G4P[8] (entre 0% et 7,3%).

Évolution des génotypes ou combinaisons atypiques

- en dehors du génotype G12P[8], décrit précédemment dans les souches dites « classiques », les **génotypes atypiques** sont des combinaisons incluant l'un des génotypes **G6, G8, G10, P[3], P[5], P[6], P[9]** et **P[14]**. Sur l'ensemble de l'étude, elles représentent **121 souches (1,1%) dont 9 (1,5%) en 2018-2019**. Parmi ces génotypes inhabituels, le génotype P[6] est le plus important (73 souches au total dont 3 en 2018-2019). Certaines de ces souches peuvent être d'origine animale, notamment bovine et caprine. Il s'agissait pour la dernière saison de souches G3P[6] (1), G4P[6] (1) et G12P[6] (1).
- les **combinaisons atypiques**, par exemple G2 associé à P[8] ou G1, G3, G4, G9 ou G12 associé à P[4] représentent 1,0% des souches détectées de 2006 à 2019 et 0,5% sur la dernière saison (2 souches G12P[4] et 1 souche G9P[4] durant la saison 2018-2019).

b/ Variabilité géographique des génotypes de rotavirus (Figure 13)

Nous avons montré dans les précédents rapports qu'il existait **une variabilité géographique, selon les centres**. Nous retrouvons lors de cette saison 2018-2019 cette même variabilité géographique avec une forte fréquence de détection des G9P[8] qui varie de 0% (Limoges) à 79,3% (Saint-Etienne) et de G3P[8] avec des détections allant de 10,3% (Saint-Etienne) à 80,6% (Toulouse). Néanmoins, cette variabilité concerne tous les génotypes. On peut noter, en particulier, une fréquence très marquée des G1P[8] à Limoges alors qu'ils ne circulent pas dans 3 centres (Brest, Cahors et Dijon). Cette même disparité est observée pour les G12P[8] (non détection dans 7 centres). Il existe donc des circulations régionales préférentielles de certains génotypes.

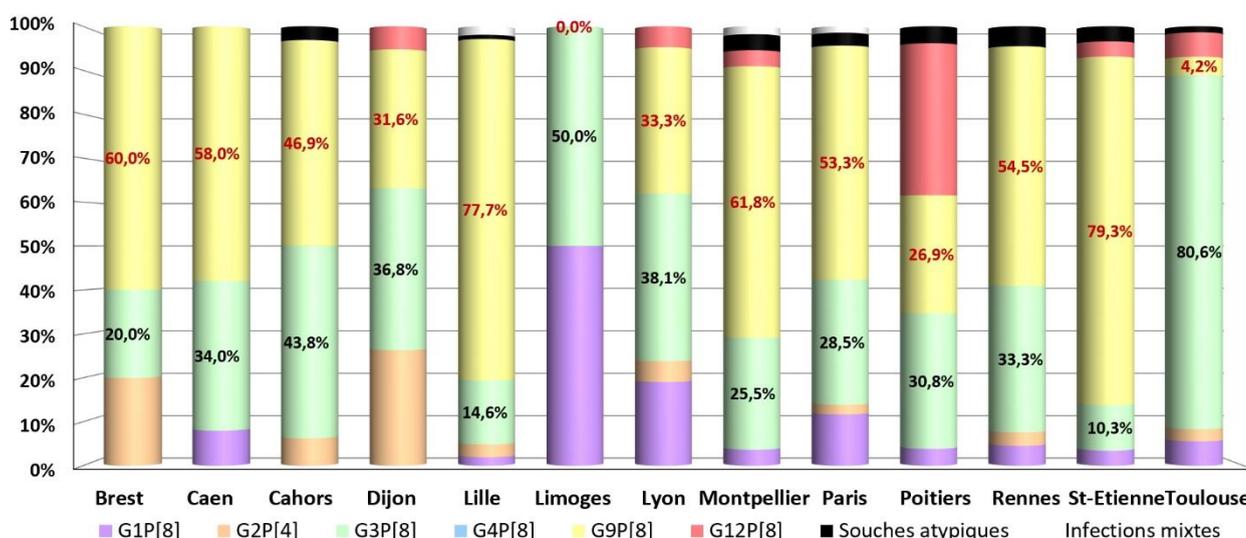


Figure 13 : Distribution des génotypes en France selon les centres durant la saison 2018-19

5/ Conclusions

La surveillance épidémiologique des souches de rotavirus a été effectuée en France en dehors de toute pression vaccinale. En effet, la couverture vaccinale ne dépasse pas, en 2019, 5% tous vaccins confondus (c.-à-d. pour les vaccins Rotarix® (monovalent, GSK) et Rotateq® (pentavalent, Merck)).

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

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

- la **large prédominance du génotype G1** à l'exception des saisons 2004-2005 et depuis 2015.
- **l'émergence de nouveaux génotypes** :
 - le **génotype G9** est devenu, depuis la saison 2004-2005, un génotype « classique » avec G1, G2, G3 et G4. Il a réémergé depuis la saison 2015-2016 et circule encore avec une forte prévalence (49,1%).
 - **l'émergence dès la saison 2011-2012 du génotype G12**, globalement moins brutale que celle du génotype G9, représentant en France entre 2 et 4% des souches avec des différences significatives selon les centres. Ce génotype semble circuler de manière régionale en France.
- la **variation cyclique des génotypes G2, G3 et G4**. Le génotype G2P[4] doit cependant être plus particulièrement suivi dans les pays où la couverture vaccinale est élevée, principalement avec le vaccin monovalent. Le génotype G3P[8] a réémergé sous l'impulsion d'une nouvelle souche G3 « *equine-like* » et sera à surveiller au cours des saisons suivantes.
- la stabilité de la fréquence des souches inhabituelles (notamment le génotype P[6]) et l'existence, parmi celles-ci, de **souches d'origine animale** infectant les enfants.

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

3.3 INTERFACES AVEC LES RÉSEAUX DE SURVEILLANCE NATIONAUX OU INTERNATIONAUX

3.3.1 Réseaux internationaux « NoroNet » et « EuroRotaNet »

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

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

Le **réseau « EuroRotanet »** a pour mission la surveillance et la caractérisation des rotavirus responsables des gastro-entérites chez les enfants. Le 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)**.

- *Composition des réseaux européens : Ces réseaux regroupent 14 laboratoires de 12 pays européens : **Pays Bas**: RIVM, Bilthoven (Dr M. Koopmans) ; **Finlande**: Helsinki University Central Hospital (Dr von Bonsdorff KH) ; **Danemark**: Virus Diagnostics Laboratory, Copenhague (Dr Böttiger) ; **Suède**: Karolinska Institute, Slona (Dr Svensson L) ; **Grande Bretagne**: Central Public Health Laboratory, London (Dr Brown D) ; **Allemagne**: Robert Koch- Institut, Berlin (Dr Schreier E) ; **Espagne**: Institut de Salud Carlos III, Madrid (Dr Sanchez A), Universitat*

de Barcelona (Dr Bosch A) et Universitat de Valencia (Dr Buesa J) ; **Italie**: Istituto Superiore di Sanità, Rome (Dr Ruggeri FM), **Slovénie** : Medical Faculty of Ljubljana (Dr. Poljsak-Prijatelj M); **Hongrie** : County Institute of State Public Health Service (Dr Szucs G) ; **France** : IFREMER (Dr F. Le Guyader S), CNR hépatites A (APHP Paul Brousse, Pr AM. Roque-Afonso) et E (CHU Toulouse, Pr J. Izopet), CNR virus des gastro-entérites (CHU Dijon, Dr A. de Rougemont).

3.3.2 Relations 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 épidémiologique des virus entériques dans la population et dans l'environnement des pays du pourtour méditerranéen et d'Afrique subsaharienne afin d'anticiper un risque de diffusion en Europe.

1/ Réseau avec le Maghreb

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

Durant l'année 2019 ce réseau a été principalement actif avec la **Tunisie**. Nous avons accueilli Mme le Dr. Khira SDIRI-LOULIZI (chercheur universitaire invité de l'Université de Monastir) dont les travaux portent sur les norovirus et les virus Aïchi.

2/ Programme d'Appui à la Recherche en Réseau en Afrique (PARRAF)

Dès 2010 nous avons commencé une collaboration avec le Niger (Centre de Recherche Médicale et Sanitaire et l'Université, Niamey). Nous avons étendu cette collaboration au Burkina Faso à partir de 2011 et jusqu'à présent dans le cadre d'un programme « PARRAF ». Au cours de l'année 2019, nous n'avons pas eu l'opportunité d'accueillir un collègue de ce réseau.

3.4 ÉTUDES PONCTUELLES CONCOURANT À LA SURVEILLANCE

3.4.1 Suivi des établissements long séjour du CHU de Dijon

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

3.4.2 Caractérisation de nouveaux virus dans les selles de patients

En collaboration avec le laboratoire d'Eric DELWART (Université de Californie, San Francisco, USA) nous recherchons par une approche métagénomique la présence de virus inhabituels ou nouveaux dans les selles de patients diarrhéiques préalablement sélectionnés. En 2015/2016 cette recherche nous a permis de caractériser de nouveaux virus pour lesquels le nom de *Smacoviridae* a été proposé pour cette nouvelle famille de virus.

4. ALERTE

4.1 CONTACT HEBDOMADAIRE AVEC SANTE PUBLIQUE FRANCE (SPF)

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

4.2 PROCÉDURES D'ALERTE DE SPF ET DES AUTRES PARTENAIRES

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

- Informer le demandeur de l'existence de formulaires à remplir disponibles sur le site internet du CNR
- Déterminer l'identifiant de l'épidémie (code à garder tout au long de l'épidémie) de la manière suivante :

| |
|---|
| <p>code département – 2 premières lettres de la ville – mois – année (Exemple : épidémie à La Baule en mars 2006 = 44BA0306)</p> |
|---|

- Entrer ces premières informations dans la base **Voozanoo** (<https://voozanoo.invs.sante.fr>).

4.2.2 Arrivée de prélèvements sans annonce préalable

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

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

4.3 DESCRIPTION DE L'INFRASTRUCTURE INFORMATIQUE

4.3.1 Transmission des données à SPF Voozanoo

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

- Enregistrement d'une épidémie dans la base Voozanoo : annonce d'une épidémie au CNR directement par un laboratoire, une ARS. Si l'épidémie n'a pas encore été annoncée à SPF, créer une nouvelle fiche pour entrer les premières informations.
- Rendu des résultats à SPF : les résultats préliminaires et définitifs sont entrés dans la base Voozanoo de SPF. Parallèlement, les résultats définitifs sont entrés dans le système informatique des laboratoires (SIL) du CHU de Dijon (Corlabs) pour archivage ; ce système informatique est protégé par un accès sécurisé.

4.3.2 Anonymisation des prélèvements

- Enregistrement des prélèvements reçus au CNR : repérer sur le serveur sécurisé le tableau de *synthèse* (S:\CNR Virus Enteriques\Tableaux de synthèse\Synthèse échantillons) le ou les numéros et identifier chacun des échantillons face au numéro en fin de liste (commencer par E...) puis les enregistrer sur le serveur du CHU (S:\CNR Virus Entériques\Tableaux de synthèse\Synthèse échantillons).
- Classement des dossiers : annexer les documents joints aux prélèvements dans une chemise identifiée par :
 - le nom de la ville qui a inspiré le numéro d'identifiant,
 - l'identifiant de l'épidémie (code département / 2 premières lettres de la ville / mois / année)
 - le numéro du carton suivi du numéro de la chemise (Exemple : 15.03 correspond au carton n°15, la chemise n°3 dans ce carton),
 - les **numéros des échantillons** correspondants (E... à E...).

5. ACTIVITÉS DE RETRO-INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL

5.1 CONSEIL ET EXPERTISE AUX PROFESSIONNELS DE SANTÉ

5.1.1 Site internet « www.cnr-ve.org »

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

Sur le site se trouvent également toutes les communications et publications du CNR et met à disposition les rapports d'activité du CNR.

Lien web : <http://www.cnr-ve.org>

5.1.2 Activité de formation

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

Stagiaires accueillis en 2019 :

- M. le Dr. Georges TARRIS (AHU en anatomo-pathologie actuellement en préparation de son doctorat d'université)
- Mme le Dr. Khira SDIRI-LOULIZI (Université Monastir, Tunisie)
- M. Nicolas AUFFRET (interne en biologie en préparation de son doctorat de pharmacie)
- Mme. Lola ELZIERE (interne en biologie en préparation de son doctorat de pharmacie)
- M. Rémi HONGROIS (étudiant en médecine en stage M1 d'initiation à la recherche)
- Mme Romane HOUDELETTE (étudiante en médecine en stage M1 d'initiation à la recherche)
- Mme Julia VAST (étudiant en médecine en stage M1 d'initiation à la recherche)
- Mme Hasna MABROUKI (étudiant en médecine en stage M1 d'initiation à la recherche)
- Mme Anaïs MAILLARD (étudiant en médecine en stage M1 d'initiation à la recherche)
- Mme Clara THIBAUT (IUT de Dijon)

5.1.3 Activité de conseil aux professionnels de santé

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

5.2 CONSEIL ET EXPERTISE AUX AUTORITÉS SANITAIRES

Le CNR participe régulièrement au Groupe de Travail « Sécurité Virale » de l'**ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament)** et à l'**ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail)**.

6. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITÉ DU CNR

6.1 ACTIVITÉS DE RECHERCHE DU CNR EN COURS POUR 2019

6.1.1 Études en cours non publiées

1/ Évaluation de quatre trousse commerciales d'immunochromatographie (ICG) triplex pour la détection combinée des rotavirus, adénovirus et norovirus dans les selles

Objectifs : évaluer et comparer les performances de ces trousse aux techniques de RT-qPCR employées en routine au CNRvge à l'aide de 194 selles positives génotypées ou négatives issues des collections du CNRvge. Les quatre fabricants de ces trousse (bioMérieux, Biosynex, CerTest et R-Biopharm) ont fourni gracieusement et sans contrepartie les kits nécessaires à l'étude.

Trousses testées : bioMérieux bioNexia® Noro/Rota-Adeno (réf. 415089), Biosynex Immunoquick® NoRotAdeno (réf. 1150013), CerTest Rota+Adeno+Noro Combo Card (réf. RA872001V) et R-Biopharm Rida® Quick Rota/Adeno/Noro Combi (réf. N1903).

État d'avancement : l'évaluation est terminée. Une publication est en revue et sera publiée dans le courant de l'année 2020. Une communication officielle sera diffusée.

Résumé : Les norovirus (NoV), les rotavirus (RVA) et les adénovirus (AdV) sont les principaux agents viraux responsables de gastro-entérites aiguës (GEA) chez l'homme. Nous avons cherché à déterminer la précision diagnostique de quatre tests immunochromatographiques (ICT) commerciaux destinés à la détection rapide et simultanée de ces trois pathogènes. La précision du diagnostic a été évaluée rétrospectivement en utilisant une collection de 160 échantillons de selles (dont 43 échantillons RVA-, 47 AdV- et 42 NoV-positifs) de patients français avec AGE et en utilisant des méthodes moléculaires comme gold-standard. Pour RVA, les quatre ICT ont montré une sensibilité élevée (93%) similaire et une excellente spécificité (97,4-100%). Pour AdV, les quatre ICT ont montré une faible sensibilité (54,3-58,7%) similaire mais une excellente spécificité (95,5-100%). Ils ont obtenu de meilleurs résultats avec les AdV-F entériques (sensibilité : 80,8-84,6%) et de plus mauvais avec des AdV non-F (sensibilité : 22,2-27,8%). Pour NoV, une ICT présentait une sensibilité élevée (87,5%), alors que la sensibilité des trois autres était comparativement faible (42,5-47,5%). Les quatre ICT présentaient une spécificité élevée (96,6-99,1%). La précision du diagnostic dépendait du génogroupe : lorsque nous avons testé les NoV génogroupe I, une ICT présentait une sensibilité élevée (90%) tandis que les trois autres TIC présentaient une faible sensibilité (10-30%) ; lorsque nous avons testé les NoV génogroupe II, la sensibilité était similaire pour les quatre ICT (65-85%).

Les quatre ICT sont des tests de première ligne appropriés pour le diagnostic rapide des infections à RVA et AdV dans un contexte de GEA. Les quatre ICT sont des tests de première ligne appropriés pour le diagnostic rapide des NoV du génogroupe II, le génogroupe le plus important sur le plan épidémiologique à ce jour, tandis qu'une seule ICT convient à la détection des NoV du génogroupe I.

2/ Études de la prévalence des infections à cosavirus, salivirus et bufavirus chez les enfants de moins de 5 ans

Objectifs : évaluer la circulation de nouveaux virus retrouvés dans les selles de sujets diarrhéiques et établir leur lien de causalité avec la diarrhée. Il s'agit de 2 nouveaux genres de *Picornaviridae* (Cosavirus et Salivirus) et 1 nouveau genre de *Parvoviridae* (Bufavirus). L'étude porte sur les populations pédiatriques consultant ou hospitalisées aux CHU de Dijon et Saint-Etienne sur une année complète. Les virus sont détectés par (RT)-qPCR dans les selles.

Partenariats : l'étude est effectuée collaboration avec le CHU de Saint-Etienne qui fournit les selles des enfants réceptionnées au laboratoire de virologie.

État d'avancement : En tout, 537 selles d'enfants de moins de 5 ans diarrhéiques ou non ont été collectés pendant 1 an aux CHU de Dijon et de Saint-Etienne, et ont été recherchées à l'aide de techniques de PCR en temps réel. Au total 170 selles ont été trouvées positives pour l'un des 3 virus : 86 (16,0%) cosavirus, 2 (0,4%) salivirus (génotype A1) et 85 (15,8%) bufavirus. Une co-infection avec un ou plusieurs autres virus entériques (norovirus, rotavirus, astrovirus, sapovirus, aichivirus, adénovirus, parechovirus et bocavirus)

a été retrouvée pour 86 (56,0%) selles. L'analyse génotypique permettra également de déterminer les génotypes viraux circulant en France.

Tableau 9 : Résultats préliminaires

| | NoVGI | NoVGII | RVA | AstV | SaV | AiV | AdV | PeV | BoV | Co-inf. |
|-----------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| CosV n=86 | 0 0,0% | 7 8,1% | 43 50,0% | 1 1,2% | 1 1,2% | 0 0,0% | 1 1,2% | 2 2,3% | 1 1,2% | 56 65,1% |
| SalV n=2 | 0 0,0% | 1 50,0% | 0 0,0% | 0 0,0% | 0 0,0% | 0 0,0% | 0 0,0% | 0 0,0% | 0 0,0% | 1 50,0% |
| BuV n=85 | 1 1,2% | 13 15,3% | 7 8,2% | 1 1,2% | 7 8,2% | 0 0,0% | 2 2,4% | 2 2,4% | 1 1,2% | 34 40,0% |
| Total n=170 | 1 0,6% | 21 12,4% | 50 29,4% | 2 1,2% | 8 4,7% | 0 0,0% | 3 1,8% | 4 2,4% | 2 1,2% | 91 53,5% |

Rq : les 3 adénovirus retrouvés étaient des adénovirus non entériques (AdV-2, 3 et 6)

État d'avancement : l'étude est terminée. Une publication est en cours d'élaboration et sera publiée dans le courant de l'année 2020. Une communication officielle sera diffusée.

3/ Étude de séroprévalence des infections à bufavirus et tusavirus en France

Objectifs : évaluer la séroprévalence de nouveaux virus entériques de la famille *Parvoviridae* dans la population française en fonction de l'âge. En tout, 960 sérums de sujets âgés de 0 à 100 ans, à raison de 96 sérums par tranche de 10 ans, seront testés avec des particules virales de synthèse (VLP) de bufavirus (BuV) de génotypes 1 à 3 et de tusavirus (TuV) dans le cadre d'une collaboration avec une équipe finlandaise.

État d'avancement : les VLP sont en cours de production et la collection de sérum a été constituée.

4/ Interaction spécifique de norovirus avec Lewis x et Lewis a sur la muqueuse inflammatoire intestinale humaine au cours d'une maladie inflammatoire intestinale réfractaire

Objectifs : Les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI), y compris la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse, sont liées à des facteurs immunologiques et microbiens, avec une implication possible des virus entériques. Notre étude a caractérisé les interactions des norovirus humains (HuNoV) avec les antigènes des groupes sanguins dans la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse réfractaires.

Résumé : L'immunohistochimie a été menée sur des échantillons de tissus inflammatoires et régénératifs de l'intestin grêle, du côlon et du rectum de 15 patients atteints de maladie de Crohn et 9 patients atteints de colite ulcéreuse. L'analyse de la muqueuse régénératrice colique et rectale a révélé une forte expression des antigènes sialylés de Lewis a (sLe^a) et Lewis x (sLe^x), et la liaison des HuNoV en l'absence d'expression d'antigène ABO à la fois dans la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse. Des expériences de compétition utilisant de la sialidase, des lectines et des anticorps monoclonaux ont démontré que l'attachement de HuNoV impliquait principalement Le^a et, dans une moindre mesure, des fragments Le^x sur la muqueuse régénératrice à la fois dans la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse. D'autres études seront nécessaires afin de comprendre les implications de la liaison spécifique de HuNoV à la muqueuse régénératrice pendant les MICI réfractaires.

État d'avancement : l'étude est terminée. Une publication est en cours d'élaboration et sera publiée dans le courant de l'année 2020.

6.1.2 Évaluation de réactifs de biologie

Comme indiqué précédemment (voir paragraphe 6.1.1), le CNRVge publiera au cours de l'année 2020 les résultats des évaluations de 4 trousseaux ICG triplex pour la détection de rotavirus, adénovirus et norovirus dans les selles.

6.1.3 Études épidémiologiques en France et dans le monde (*abstracts*)

Au cours de l'année 2018, le CNRVge a publié 2 études épidémiologiques portant sur :

- la prédominance des rotavirus de génotype G9P[8] chez les enfants en France entre 2014 et 2017
- une étude séro-épidémiologique des norovirus en Afrique Sub-saharienne
- une analyse des données épidémiologiques du NoroNet de 2005 à 2016

1/ *Gastroenteritis and respiratory infection outbreaks in French nursing homes from 2007 to 2018: Morbidity and all-cause lethality according to the individual characteristics of residents*

Background: *Gastroenteritis (GE) and respiratory tract infection (RTI) outbreaks are a significant issue in nursing homes. This study aimed to describe GE and RTI outbreaks with infection and all-cause lethality rates according to the individual characteristics of nursing home residents.*

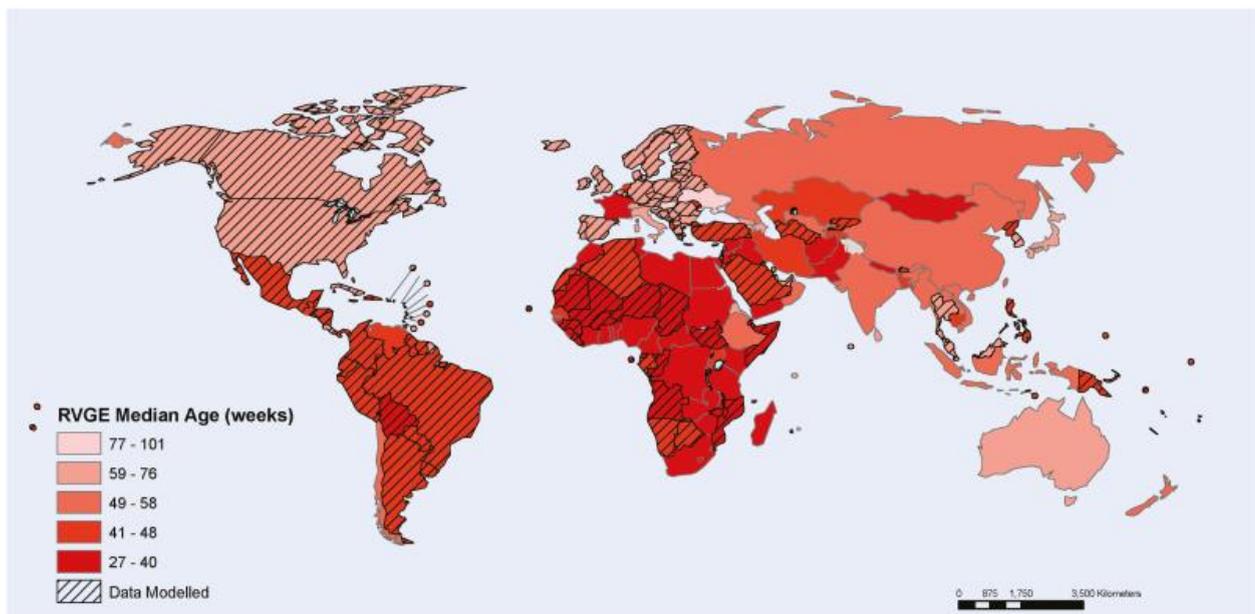
Methods: *Clinical and virological surveillance were conducted (2007 to 2018). Virus stratifications for the analysis were: outbreaks with positive norovirus or influenza identifications (respectively NoV+ or Flu+), episodes with no NoV or influenza identification or testing (respectively NoV- or Flu-). Associations between individual variables (sex, age, length of stay (LOS), autonomy status) and infection and lethality rates were tested with univariate and Mantel-Haenszel (MH) methods.*

Results: *61 GE outbreaks and 76 RTI outbreaks (total 137 outbreaks) were recorded involving respectively 4309 and 5862 residents. In univariate analysis, higher infection rates and age were associated in NoV+, NoV-, and Flu+ contexts, and lower infection rates were associated with longer stays (NoV+ and NoV-). In MH stratified analysis (virus, sex (female/male)) adjusted for LOS (<4 or ≥4 years), the odds of being infected remained significant among older residents (≥86 years): NoV+/male (Odds ratio (ORMH): 1.64, 95% confidence interval (CI): 1.16-2.30) and Flu+/female and male (respectively ORMH: 1.50, CI: 1.27-1.79 and 1.73, CI: 1.28-2.33). In univariate analysis, lower autonomy status (NoV+, Flu+ and Flu-) and increased age (Flu+) were associated with higher lethality. In MH adjusted analysis, significant ORage adjusted for autonomy was: Flu+/ ≥86 years compared with <86 years, 1.97 (1.19-3.25) and ORautonomy adjusted for age for the more autonomous group (compared with the less autonomous group) was: Flu+, 0.41 (0.24-0.69); Flu-, 0.42 (0.20, 0.90).*

Conclusion: *The residents of nursing homes are increasingly elderly and dependent. The specific infection and lethality risks according to these two factors indicate that surveillance and infection control measures are essential and of high priority.*

2/ *Global Review of the Age Distribution of Rotavirus Disease in Children Aged <5 Years Before the Introduction of Rotavirus Vaccination*

We sought datasets with granular age distributions of rotavirus-positive disease presentations among children <5 years of age, before the introduction of rotavirus vaccines. We identified 117 datasets and fit parametric age distributions to each country dataset and mortality stratum. We calculated the median age and the cumulative proportion of rotavirus gastroenteritis events expected to occur at ages between birth and 5.0 years. The median age of rotavirus-positive hospital admissions was 38 weeks (interquartile range [IQR], 25-58 weeks) in countries with very high child mortality and 65 weeks (IQR, 40-107 weeks) in countries with very low or low child mortality. In countries with very high child mortality, 69% of rotavirus-positive admissions in children <5 years of age were in the first year of life, with 3% by 10 weeks, 8% by 15 weeks, and 27% by 26 weeks. This information is critical for assessing the potential benefits of alternative rotavirus vaccination schedules in different countries and for monitoring program impact.



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Data Source: Literature Review and GRSN
World Health Organization



© WHO 2013. All rights reserved.

Estimated and extrapolated prevaccination median age of rotavirus-positive hospital admissions in children aged <5 years, by country. Lighter red represents younger median age and darker red represents older median age. If >1 study was conducted within a country, the median of median ages was used. If no data were available for a country, the median age was extrapolated (indicated by diagonal shading) using the median age of the under-5 mortality stratum. Abbreviations: GRSN, Global Rotavirus Surveillance Network; RVGE, rotavirus gastroenteritis. The map is reprinted with permission from the World Health Organization.

3/ Pathology of Rotavirus-driven Multiple Organ Failure in a 16-month-old Boy

En France, le rotavirus de groupe A (RVA) est incriminé dans la majorité des gastro-entérites aiguës en contexte pédiatrique. La vaccination ne demeure pas moins facultative, avec moins de 5% de couverture vaccinale. L'objectif de notre étude a été de déterminer les sites de réplication du RVA au sein de prélèvements tissulaires réalisés lors de l'autopsie d'un enfant de 16 mois aux antécédents de retard de croissance intra-utérin, décédé des suites d'une infection à RVA. Des prélèvements de cœur, foie, rein, poumons et péricarde ont été réalisés. La détection des protéines non-structurales (NS) et de capsid (VP) du RVA par immunohistochimie et immunofluorescence a permis de déterminer les sites d'accroche du virus et de sa réplication intracellulaire. La détection des protéines de capsid VP2 et VP6 et des protéines de réplication virale NSP2, NSP4 et NSP5 au niveau des tubes contournés distaux et des tubes collecteurs, toutefois sans atteinte glomérulaire, a permis de démontrer la réalité de la réplication intra-rénale du RVA. La présence d'une forte virémie à Rotavirus G1P[8] ainsi qu'une insuffisance rénale aiguë sévère sur les prélèvements sanguins post mortem a permis d'orienter les causes du décès vers une infection systémique sévère par RVA avec une insuffisance rénale sévère dont la cause ne peut être que partiellement expliquée par une déshydratation intense liée à la pathologie. Nos données soulignent le possible rôle incriminant du Rotavirus G1P[8] dans l'atteinte organique rénale. Les mécanismes physiopathologiques expliquant ce phénomène restent jusque lors inexpliqués.

Abstract: *Autopsy investigation of a fatal case of rotavirus severe acute gastroenteritis and multiple organ failure in a 16-month boy with previous intrauterine growth retardation showed colocalization of nonstructural and structural rotavirus proteins within viroplasm in nephrons. This case brings new insights into extraintestinal rotavirus infection and new clues to its abilities to bind to human histo-blood group antigens.*

6.1.4 Études fondamentales (*abstracts*)

Au cours de l'année 2018, le CNRvge a publié 1 étude fondamentale portant sur la modélisation sur l'élimination et l'immobilisation des norovirus murins dans le sol.

1/ *Polyprotein processing and intermolecular interactions within the viral replication complex spatially and temporally control norovirus protease activity.*

Norovirus infections are a major cause of acute viral gastroenteritis and a significant burden on global human health. A vital process for norovirus replication is the processing of the nonstructural polyprotein by a viral protease into the viral components required to form the viral replication complex. This cleavage occurs at different rates, resulting in the accumulation of stable precursor forms. Here, we characterized how precursor forms of the norovirus protease accumulate during infection. Using stable forms of the protease precursors, we demonstrated that all of them are proteolytically active in vitro, but that when expressed in cells, their activities are determined by both substrate and protease localization. Although all precursors could cleave a replication complex-associated substrate, only a subset of precursors lacking the NS4 protein were capable of efficiently cleaving a cytoplasmic substrate. By mapping the full range of protein-protein interactions among murine and human norovirus proteins with the LUMIER assay, we uncovered conserved interactions between replication complex members that modify the localization of a protease precursor subset. Finally, we demonstrate that fusion to the membrane-bound replication complex components permits efficient cleavage of a fused substrate when active polyprotein-derived protease is provided in trans. These findings offer a model for how norovirus can regulate the timing of substrate cleavage throughout the replication cycle. Because the norovirus protease represents a key target in antiviral therapies, an improved understanding of its function and regulation, as well as identification of interactions among the other nonstructural proteins, offers new avenues for antiviral drug design.

2/ *Effect of natural ageing and heat treatments on GII.4 norovirus binding to Histo-Blood Group Antigen*

Human noroviruses (HuNoVs) are the leading cause of viral foodborne outbreaks worldwide. To date, no available methods can be routinely used to detect infectious HuNoVs in foodstuffs. HuNoVs recognize Histo-Blood Group Antigens (HBGAs) through the binding pocket (BP) of capsid protein VP1, which promotes infection in the host cell. In this context, the suitability of human HBGA-binding assays to evaluate the BP integrity of HuNoVs was studied on GII.4 virus-like particles (VLPs) and GII.4 HuNoVs during natural ageing at 20 °C and heat treatments. Our results demonstrate that this approach may reduce the over-estimation of potential infectious HuNoVs resulting from solely using the genome detection, even though some limitations have been identified. The specificity of HBGA-binding to the BP is clearly dependent on the HBGA type (as previously evidenced) and the ionic strength of the media without disturbing such interactions. This study also provides new arguments regarding the ability of VLPs to mimic HuNoV behavior during inactivation treatments. The BP stability of VLPs was at least 4.3-fold lower than that of HuNoVs at 20 °C, whereas capsids of both particles were disrupted at 72 °C. Thus, VLPs are relevant surrogates of HuNoVs for inactivation treatments inducing significant changes in the capsid structure.

6.2 LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DU CNR (2019)

6.2.1 Publications internationales

1. P Gaspard, A Mosnier, L Simon, O Ali-Brandmeyer, C Rabaud, S Larocca, B Heck, S Aho-Glélé, **P Pothier, K Ambert-Balay**. Gastroenteritis and respiratory infection outbreaks in French nursing homes from 2007 to 2018: Morbidity and all-cause lethality according to the individual characteristics of residents
2. M Robin, M Chassaing, J Loutreul, **A de Rougemont, G Belliot**, D Majou, C Gantzer, N Boudaud. Effect of natural ageing and heat treatments on GII.4 norovirus binding to Histo-Blood Group Antigens. *Sci Rep*, 2019;9:15312.

3. **G Tarris, G Belliot**, P Callier, F Huet, L Martin, **A de Rougemont***. Pathology of rotavirus-driven multiple organ failure in a 16-mo boy. *Pediatr Infect Dis J*, 2019.
4. M Hasso-Agopsowicz, CN Ladva, B Lopman, C Sanderson, AL Cohen, JE Tate, X Riveros, AM Henao-Restrepo, A Clark; Global Rotavirus Surveillance Network and **Rotavirus Age Study Collaborators**. Global Review of the Age Distribution of Rotavirus Disease in Children Aged <5 Years Before the Introduction of Rotavirus Vaccination. *Clin Infect Dis*, 2019;69(6):1071-1078.
5. E Emmott*†, **A de Rougemont†**, J Haas, I Goodfellow*. Polyprotein processing and intermolecular interactions within the viral replication complex spatially and temporally control norovirus protease activity. *J Biol Chem*, 2019; 294(11):4259-4271. **(IF=4.125)**

6.2.2 Publications nationales et chapitres d'ouvrages

1. P Loury, L Gross, F Dugast, L Favennec, F Dalle, **A de Rougemont**, B Polack, D Giraudeau, S Valot, D Costa, B Hubert. Épidémie de cryptosporidiose dans un collège de l'ouest de la France, novembre 2017. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 2019; 46: .

6.2.3 Communications internationales

1. **G Belliot, M Estienney, G Tarris, P Daval, S Ayouni**, L Martin, J Le Pendu, **A de Rougemont**. Histo-Blood Group Antigen binding profile of GII.17 noroviruses. *7th International Calicivirus Conference, Sydney (Australia), October 2019*.
2. **G Tarris, G Belliot**, P Callier, L Martin, **A de Rougemont**. Pathology of rotavirus-driven multi-organ failure in infants. *31st European Congress of Pathology, Nice (France), September 2019*.
3. **D Agnello, D Denimal, A Lavaux, C Pitoiset, P Pothier, A de Rougemont**. Rotavirus (RV)-specific IgG-positive memory B cells induced by intra-rectal immunization with 2/6-virus-like particles generate gut-homing IgA-secreting cells upon RV infection. *6th European Expert Meeting on Rotavirus Vaccination / 8th European Rotavirus Biology Meeting, Riga (Latvia), April 2019*.

6.2.4 Communications nationales

1. J Kaplon, L Théry, M Bidalot, N Grangier, J Frappier, LS Aho Glélé, **A de Rougemont**, K Ambert-Balay. Performances diagnostiques des tests immunochromatographiques triplex Norovirus/Rotavirus/Adénovirus. *39^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, décembre 2019*.
2. **A de Rougemont**. Gastro-entérites virales - Stratégie diagnostic des diarrhées. *Les infections gastro-intestinales, journée DPC du Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière (Col.BVH), Paris, 21 juin 2019*.

7. COOPÉRATION AVEC LES LABORATOIRES DE SANTÉ ANIMALE, D'HYGIÈNE ALIMENTAIRE, ENVIRONNEMENTAUX, INDUSTRIELS

7.1. COOPÉRATIONS STRUCTURELLES DANS LE CADRE DE NOS ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE ET D'ALERTE

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

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

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

7.2. COOPÉRATIONS DANS LE CADRE DE PROJETS DE RECHERCHE

7.2.1 Coopérations universitaires

Depuis 2016, l'équipe de recherche du CNRVge est intégrée à l'équipe « **Procédés Microbiologiques et Biotechnologiques** » à l'**Unité Mixte de Recherche « Procédés Alimentaires et Microbiologiques » (UMR PAM)**, placée sous la gestion conjointe d'AgroSup Dijon et de l'Université de Bourgogne. Fondée le 1^{er} janvier 2012, elle est constituée de 3 équipes : **PMB, PCAV (« Physico-Chimie de l'Aliment et du Vin »)**, et **VALMIS (« Vin-ALiment-Microbiologie-Stress »)**. Elle est installée sur 4 sites : AgroSup Dijon, l'IUVV, l'INRA et l'UFR des Sciences de Santé. L'UMR PAM est un acteur majeur du progrès scientifique et technologique dans le domaine des aliments et du vin. Les travaux conduits par l'équipe PMB s'affichent dans le cadre « santé et alimentation » et sont tournés vers le monde de l'industrie. Ils ont pour finalité l'amélioration de la qualité de la nutrition en élaborant de nouveaux produits ou procédés à partir de microorganismes, et l'évaluation des risques que posent les virus dans l'alimentation (sécurité alimentaire). À cette fin, l'activité de recherche est centrée sur la maîtrise de l'activité et de la fonctionnalité de microorganismes soumis à différents types de perturbations environnementales d'amplitude et de cinétique variés. Nos travaux sont surtout axés sur les norovirus et leur éradication suivant les conclusions du *Codex alimentarium* de 2012.

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

7.2.2 Projets

Projet européen OXYVIR

Le CNRVge participe depuis de 2017 au projet OXYVIR subventionné par le Fond Européen pour les Affaires Maritimes et la Pêche (FEAMP) sur 3 ans. Ce projet OXYVIR porte sur la survie des norovirus et l'étude de leur pouvoir infectieux en conchyliculture et en particulier en ostréiculture. Dans le cadre de ce projet, le CNRVge apporte son expertise scientifique et technologique sur les norovirus et l'utilisation de particules virales de synthèse (VLP). Les membres du consortium sont les suivants : ACTALIA (Saint Lô, association Loi 1901), le Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'Environnement (UMR 7564, Université de Lorraine, Nancy), le Laboratoire de Chimie et Physique des milieux complexes (Université de Lorraine, Metz), Spéciales GILLARDEAU (conchyliculteur) et le Pôle de compétitivité AQUIMER (Boulogne sur mer).

7.2.3 Collaboration avec l'INRA

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

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

7.2.4 Conclusion sur nos coopérations

Nos activités de surveillance nous ont conduites à collaborer régulièrement avec l'IFREMER et l'ANSES. Nos participations à des contrats de recherche, ANR ou autres nous ont permis de collaborer avec d'autres laboratoires avec lesquels nous avons conservé des contacts.

Parallèlement à ce réseau national, nous avons recherché à mieux insérer notre CNR dans le contexte scientifique local travaillant dans les domaines de la microbiologie alimentaire ou de l'environnement. Ainsi, notre collaboration avec l'UMR PAM (Pr. Laurent BENEY) a été soutenue par la Région Bourgogne.

8. PROGRAMME D'ACTIVITÉ POUR LES ANNÉES SUIVANTES

8.1. ACTIVITÉS D'EXPERTISE

8.1.1 Évaluation de trousse de diagnostic

Diagnostic des norovirus

Nous poursuivrons notre **évaluation des trousse de diagnostic par immuno- chromatographie (ICG) et de diagnostic moléculaire**. Les évaluations que nous pratiquons montrent une amélioration de la sensibilité, néanmoins les firmes poursuivent le développement et l'amélioration de ces trousse car la sensibilité n'est globalement encore pas satisfaisante.

Diagnostic de rotavirus

Contrairement au diagnostic des norovirus, les méthodes d'immunochromatographie sont très satisfaisantes en termes de sensibilité. Nous poursuivons cette veille et développerons des évaluations des trousse de diagnostic par biologie moléculaire. Néanmoins, nous envisageons l'évaluation de ces tests chez le nouveau-né et le prématuré en réanimation pédiatrique. Face à un nombre de faux positifs régulièrement rapportés, cette étude visera à déterminer la pertinence et les limites des tests ICG chez des enfants ayant une immaturité du système digestif.

Diagnostic des pathogènes entériques

Plusieurs fournisseurs développent une **approche « syndromique »** du diagnostic en recherchant tous les pathogènes entériques en une seule analyse. Outre l'aspect technique de ces réactifs, nous évaluons l'aspect stratégique de leur utilisation afin de définir et limiter les indications de ces réactifs coûteux. Par ailleurs, des évaluations de leur sensibilité semblent nécessaires pour mieux appréhender ces nouveaux outils.

8.1.2 Développement de techniques

Transferts technologiques et développement du NGS

Fort de nos collaborations, nous avons entrepris depuis quelques années une démarche de développement du **séquençage haut débit (Next Génération Sequencing)** pour la détection des virus entériques ARN dans les selles à l'aide de la technologie Illumina sur MiSeq® puis NextSeq®. Le CNRvge a acquis une compétence partielle de bioinformatique pour l'analyse des données et peut s'appuyer sur l'expertise de l'équipe « *Genetics of Development Disorders* » (GAD) de l'INSERM 1231 qui partage nos locaux au CHU. Nous sommes aujourd'hui capables de détecter et séquencer les génomes de norovirus et de rotavirus issus de notre biobanque et de cultures. Diverses approches vont être mis en place avec i) une recherche mensuelle/bimestrielle pan-viral ARN dans les selles de patients immunodéprimés, ii) une approche « *whole-sequencing* » des souches d'intérêt, en particuliers des norovirus.

Amélioration des techniques de quantification des virus entériques dans les selles

Ces techniques quantitatives s'appuient sur l'utilisation systématique de gammes ARN des virus cibles afin d'en déterminer la charge dans les selles. La synthèse des ARN à partir de plasmide pour l'élaboration des gammes est effectuée au laboratoire. Le laboratoire possède les plasmides nécessaires pour la synthèse de ces ARN (entérovirus, norovirus GI et GII, VHA, VHE, rotavirus, bocavirus, salivirus, cosavirus, aichivirus, astrovirus).

Développement de l'étude des constellations de gènes de rotavirus

Cette technique actuellement en notre possession permet d'étudier l'ensemble des 11 gènes de rotavirus et de mettre en évidence des recombinaisons. Cette approche est importante lorsqu'il s'agit de comparer un rotavirus à une souche vaccinale lors de gastro-entérites aiguës post-vaccinales. Elle sera généralisée à un plus grand nombre d'échantillons. Elle servira également d'étalon pour évaluer les performances de la technologie NGS sur les rotavirus.

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

D'autres virus, plus exotiques, peuvent être impliqués dans les GEA : deux nouveaux genres de *Pirconaviridae* : les cosavirus et les salivirus, et deux nouveaux *Protoparvoviridae*, le bufavirus qui compte 3 génotypes et le tusavirus. Nous possédons déjà une bonne expérience dans la détection de ces virus et

l'évaluation de leur prévalence dans la population pédiatrique est en cours. La mise en production de ces techniques est en cours d'évaluation.

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

Constitution et stockage

Nos collections comprennent des souches virales pour les virus cultivant sur cellules, des échantillons de selle comprenant des virus caractérisés, des gènes clonés et des pseudo- particules virales dérivées des norovirus humains (*virus like particle* ou VLP), des anticorps monoclonaux spécifiques des norovirus et rotavirus. Cette collection constituée depuis 2002 comprend l'ensemble des virus responsables de gastro-entérites connus et la plupart des génotypes de ceux-ci.

Cette collection est anonyme pour ce qui concerne les échantillons de selle. Cette collection est conservée dans le **Centre de Ressources Biologiques (CRB) Ferdinand-Cabanne** (www.crberferdinandcabanne.fr) dont le numéro d'accréditation est **BB-0033-00044**. Une petite partie, nécessaire pour notre activité quotidienne, est conservée en miroir sous forme d'aliquotes dans les enceintes froides à -40°C ou -80°C.

Mise à disposition des collections

Les souches caractérisées, les VLP et les anticorps sont conservés au sein du CNR et du CRB microbiologique du CHU de Dijon. Tous les produits ou souches d'intérêt pour le diagnostic biologique de routine des gastro-entérites virales sont disponibles pour les laboratoires d'analyses médicales y compris les laboratoires privés.

Tous les produits ou souches d'intérêt scientifique sont disponibles pour les laboratoires de recherche académique selon les conditions habituelles, c'est-à-dire après signature d'un « *Material Transfert Agreement* » entre notre établissement et les demandeurs.

Tous les produits ou souches d'intérêt de notre collection sont disponibles pour les sociétés privées dans le cadre d'un contrat entre notre établissement et ces sociétés.

Toutes les séquences génomiques virales d'intérêt sont à disposition de nos collègues des réseaux « *NoroNet* » et « *EuroRotaNet* ». Certaines de ces séquences sont incluses dans des banques de données accessibles à tous comme GenBank.

8.1.4 Travaux d'évaluation de techniques

Collaborations avec les industrielles

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

Évaluations futures

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

Comme évoqué plus haut, nous travaillons également sur les trousse de diagnostic dit « syndromique ». Nous avons déjà évalué cette technologie (réactif Biofire® de BioMérieux®) sachant que d'autres réactifs sont ou seront prochainement sur le marché. Outre l'évaluation des performances de ces réactifs, il nous conviendra d'en définir leur utilisation. En effet, le coût élevé de ces tests, obligera les biologistes à en cibler les indications. Outre les caractéristiques virologiques des virus des échantillons, nos panels d'évaluation tiendront compte des caractéristiques cliniques et épidémiologiques (patients immunodéprimés, enfants, personnes âgées en institution, etc..). Cette évaluation devrait aboutir à l'écriture d'une procédure à usage interne définissant le bon usage de ces systèmes.

8.1.5 Projets de transferts de techniques vers d'autres laboratoires

Des réactifs pour le diagnostic des norovirus et des rotavirus étant commercialisés, les demandes de transfert de techniques de diagnostic pour ces virus se posent donc rarement. Néanmoins, **nos procédures sont disponibles** et nous assurerons un **soutien technique à distance**. Ces processus sont principalement adaptés aux virus moins fréquents comme les virus Aichi et les Sapovirus.

La demande la plus fréquente émane des laboratoires pour la **fourniture de témoins positifs**. Nous disposons à cet effet d'un stock d'échantillons de selle dont le virus est parfaitement caractérisé. En collaboration avec l'ANSM nous avons élaboré par le passé un contrôle externe des tests rapides par immunochromatographie des rotavirus, l'ANSM s'étant chargée ensuite de la distribution de ces réactifs biologiques aux laboratoires participant à l'évaluation de leur technique. Dans le futur, à la demande de l'agence, nous serions en mesure de préparer à nouveaux ce type de contrôle externe pour les rotavirus et pour les norovirus. S'agissant des norovirus, nous avons également développé une collection d'antigènes synthétiques sous forme de VLP correspondant aux principaux génotypes de norovirus, dont les derniers variants. Ces VLP peuvent être utilisées comme contrôle externe dans les tests de détection des norovirus par immunochromatographie.

8.1.6 Recherche liées avec les missions du CNR des virus des gastro-entérites

1/ Études épidémiologiques

Poursuite de la surveillance des souches de rotavirus du groupe A et de leur dérive antigénique dans un contexte vaccinal chez l'enfant grâce à l'extension du Réseau National Rotavirus vers le Sud et l'Ouest de la France. En particulier, nous nous intéresserons à l'émergence de nouveaux génotypes ainsi qu'à l'impact de la vaccination sur la sélection préférentielle de souches de rotavirus. Nous poursuivrons également l'étude de la relation entre HBGA (antigènes tissulaires de groupes sanguins) et rotavirus, et pour laquelle nous avons acquis une solide expérience au CNR.

Surveillance des souches de norovirus épidémiques et l'émergence de nouveaux variants/génotypes dans la population. Nous évaluerons la capacité épidémique des souches qui pourraient émerger et leur fixation aux HBGA (antigènes tissulaires de groupes sanguins), ligands naturels des norovirus. Établissement des profils d'interaction et d'affinité des nouveaux variants épidémiques GII.4 et GII.17 avec les HBGA sur des salives phénotypées et par résonance plasmonique de surface.

Étude du microbiote intestinal chez les personnes âgées ayant présenté une GEA à norovirus. Les personnes âgées qui ont une diminution de la biodiversité de leur microbiote intestinal pourraient être plus vulnérables aux infections à norovirus et à leurs conséquences post-infectieuses. Les objectifs seront de déterminer les éléments du microbiote qui pourraient prédire la survenue et/ou la sévérité d'une infection à norovirus ; d'évaluer les conséquences des infections gastro-intestinales à norovirus sur la composition du microbiote intestinal chez les personnes âgées en EHPAD. Cette étude est effectuée avec le support technique de l'équipe du Pr SOKOL et de la plateforme MOCALIS de l'INRA de Jouy-en-Josas.

2/ Études fondamentales

Évaluation des systèmes de culture des norovirus : Un des freins à l'étude des norovirus a été pendant longtemps l'absence de système de culture du virus. Le diagnostic moléculaire de ces virus a permis de grand progrès en recherche mais aussi de développer un diagnostic efficace. En revanche, les troupes disponibles ne permettent pas d'évaluer le pouvoir infectieux de ces virus. Très récemment, deux systèmes de culture des norovirus humains ont été proposés dont les entéroïdes humains pour l'étude de la réplication. Le CNR travaille actuellement à l'évaluation et la faisabilité de ces deux techniques pour évaluer le potentiel infectieux des norovirus en complément avec les technologies que nous avons pu développer avec les VLP.

Expression des HBGA et réponse Th1/Th17 au cours de maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) : rôle des norovirus. À ce jour, aucune évaluation histopathologique de l'expression tissulaire des ligands des norovirus (HBGA) n'a été conduite chez des patients porteurs de MICI. Très peu d'études sur la distribution in situ des sous-populations lymphocytaires lors d'une phase active de MICI ont été conduites. Les interactions norovirus-hôte en fonction des profils génétiques de FUT2 et FUT3 dans le cadre de MICI restent également à étudier. L'objectif principal de l'étude sera de déterminer les liens

éventuels des HBGA et de l'infection par les norovirus chez les patients souffrant de MICI. Le projet s'articulera en plusieurs volets : analyser le niveau d'expression des HBGA au niveau de la surface des entérocytes, chez des patients atteints de MICI ; analyser la capacité de liaison des norovirus au niveau de la surface des entérocytes de patients souffrant de MICI ; analyser la répartition tissulaire des sous-populations lymphocytaires Th1 et Th17 au niveau de la surface des entérocytes de patients atteints de MICI ; et réaliser sur tissu intestinal un phénotypage et génotypage des gènes FUT2 et FUT3.

3/ Études environnementales et agro-alimentaires en collaboration

Développement d'une méthode technico-économique réaliste pour estimer le danger lié aux norovirus humains dans les aliments à risque (collaboration industrielle). Étude des modifications physico-chimiques des VLP de norovirus (GII.4, autres) en suspension au cours de l'inactivation par oxydation (chlore ou ozone) et par la température (50-60°C) : évaluation de l'impact sur la charge globale, l'hydrophobie, la reconnaissance et l'affinité pour les HBGA ; étude des modifications des VLP de norovirus adhérents sur une matrice de type végétaux frais au cours de l'inactivation par oxydation (chlore ou ozone) et par la température (50-60°C) : évaluation de l'impact sur la charge globale, l'hydrophobie, la reconnaissance et l'affinité pour les HBGA après extraction des virus par « élution - concentration » selon la méthode ISO 15216.

Étude visant à déterminer comment la transmission alimentaire des gastroentérites virales aiguës est façonnée par les pratiques alimentaires, d'hygiène et de santé et par le devenir du virus dans l'environnement. Ce projet en partenariat avec un consortium de 12 laboratoires dont l'INRA d'Avignon, vise à améliorer l'évaluation quantitative des risques microbiens (QMRA) liés aux infections virales dues à la consommation de légumes-feuilles crus et à l'origine de gastroentérites aiguës, en intégrant toutes les étapes de la production à la consommation des légumes-feuilles. Les livrables seront (i) une base de données réunissant les résultats des expériences, de la surveillance et des enquêtes du projet, (ii) un modèle multicritère couplant devenir environnemental des virus et QMRA et prenant en compte des paramètres scientifiques et des pratiques humaines, et (iii) la mise à disposition d'une typologie de situations à risques et de situations les plus favorables à la santé. Le projet revisitera les hypothèses sous-jacentes à la contamination initiale de surface ou internalisée des légumes-feuilles et au devenir ultérieur des virus ; il intégrera l'impact des pratiques individuelles en matière d'alimentation, d'hygiène et de santé, et les choix sociétaux en matière de Santé Publique et de gestion des eaux usées.

8.2. ACTIVITÉS DE SURVEILLANCE

8.2.1 Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à rotavirus

La surveillance des gastro-entérites infantiles sera poursuivie avec les 18 centres métropolitains. Nous tenterons d'impliquer des centres d'Outre-Mer, nos actions ont commencé en 2013 dans l'île de la Réunion. La poursuite de cette surveillance est importante et elle s'intègre dans une surveillance plus large, au niveau européen avec notre participation au réseau EuroRotaNet. Par ailleurs, nos collaborations avec nos **partenaires de l'Afrique Sub-Saharienne et du Maghreb** seront poursuivies afin de mieux surveiller les souches en capacité d'émergence en France.

8.2.2 Surveillance épidémiologique des gastro-entérites à norovirus

La surveillance des souches de norovirus et l'étude de leur évolution reste un de nos objectifs prioritaires pour 2020. Notre collaboration avec les délégations territoriales des ARS et des CIRE nous permettent de recevoir les épidémies qui surviennent sur l'ensemble de la Métropole. Nous poursuivons nos **partenariats traditionnels** comme l'IFREMER, l'ANSES et les autres CNR, mais également avec **d'autres instituts** tels que l'INRA, AgroSup, ADRIA pour des recherches plus ponctuelles sur l'environnement ou la contamination des aliments.

8.3. CONTRIBUTION À L'ALERTE

Les procédures d'alerte seront poursuivies selon une procédure formalisée et actualisée. Tous événements apparaissant anormal ou nécessitant une discussion avec les épidémiologistes sont transmis à SPF via nos contacts. Les alertes européennes concernant les risques alimentaires sont diffusées par internet par le réseau FBVE-Net. SPF, ANSES et IFREMER sont également informées et par les mêmes voies que notre CNR.

8.4. ACTIVITÉ D'INFORMATION, FORMATION ET CONSEIL

8.4.1 Modalités de diffusion de l'information et des résultats

Le site internet est pour nous un moyen de communication ou d'information important. Il détaille les conditions de prélèvements de selles, de leur conservation et de leur acheminement au CNR (www.cnr-ve.org). L'évolution du site internet pour les prochaines années concernera le développement d'un **serveur sécurisé des résultats** qui permettra de réduire les délais de rendus et d'échange avec nos partenaires. Ce serveur ne pourra pas être mis en place avant le changement du SGL du laboratoire en 2021.

8.4.2 Collaboration/expertises auprès d'instances nationales ou internationales

Comme par le passé, le CNR des virus des gastro-entérites apportera son aide ou ses conseils aux établissements publics, aux établissements de soins ou d'hébergement (publics ou privés), aux administrations qui lui en feraient la demande et aux Ministères. Sous certaines conditions, nos conseils peuvent être dispensés aux entreprises privées. Le directeur du CNRvge fait partie du comité permanent de sécurité virale de l'ANSM où il apporte son expertise sur les virus entériques notamment dans le cadre des transplantations de microbiote fécal (TMF).

8.4.3 Activité de formation

L'activité de formation se fera essentiellement par l'accueil et l'encadrement de stagiaires, la mise en place de conférences et/ou séminaires ainsi que via des enseignements postuniversitaires et des publications didactiques ou de vulgarisation. Le CNRvge propose à la rentrée 2019 un module d'enseignement « virologie » de 20h dans la formation initiale des ingénieurs agro-alimentaires d'AgroSup Dijon ainsi que 6h dans un M2R international.