

Table des matières

RESUME ANALYTIQUE.....	1
EXECUTIVE SUMMARY	2
1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR entérovirus-parechovirus	3
2. ACTIVITES D'EXPERTISE	3
2.1. Evolution des techniques	3
2.1.1. Laboratoire coordonnateur.....	3
2.1.2. Laboratoire associé.....	4
2.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	4
2.2.1. Evaluation de la performance des techniques de détection moléculaire des EV utilisées par les laboratoires du RSE – EEQ 2022.....	4
2.2.2. Evaluation inter-laboratoires (EIL) pour la détection et le typage de l'entérovirus D68 (EV-D68)	5
2.2.3. Evaluation de trousse	5
2.2.4. Mise en place et évaluation du séquençage Illumina sur amplicons pour le typage de routine des EV	6
2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	7
2.4. Collections de matériel biologique.....	7
2.5. Activités d'expertise	7
2.5.1 Recherche et identification des entérovirus	7
2.5.2. Recherche des infections à parechovirus.....	11
2.6. Activités de séquençage	13
2.6.1. Séquençage Sanger	13
3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE.....	19
3.1. Description du réseau de partenaires	21
3.1.1. Surveillance hospitalière des infections à entérovirus.....	21
3.1.2. Surveillance ambulatoire de la maladie pieds-mains-bouche	21
3.2. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	22
3.2.1. Bilan clinico-épidémiologique et virologique	22
3.2.2. Bilan clinico-épidémiologique par syndrome	24
3.2.3. Surveillance spécifique de la poliomyélite	40
3.2.4. Surveillance des infections à parechovirus en France métropolitaine	42
3.2.5. Surveillance des infections à EV, rhinovirus et parechovirus dans les DROM	44
3.3. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux et internationaux	45
3.3.1. Surveillance nationale	45
3.3.2. Surveillance internationale.....	45
3.4. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	46

3.4.1. Suivi de l'immunité anti-polio chez les salariés exposés aux poliovirus	46
3.4.2. Suivi de l'immunité anti-poliovirus au CHU de Lyon	47
3.4.3. Suivi de l'immunité anti-poliovirus hors CHU de Lyon	47
4 – ALERTES	48
4.1. Infections néonatales sévères à E-11	48
4.2. Mort fœtale <i>in utero</i> associée à des infections à EV	49
5 - ACTIVITES DE MISE A DISPOSITION DE L'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL	50
5.1. Conseils et expertise aux professionnels de santé	50
5.2. Conseils et expertise aux autorités sanitaires	51
6 – Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR en 2022.....	52
6.1. Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	52
6.1.1 Laboratoire coordonnateur	52
6.1.2. Laboratoire associé.....	52
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	56
6.2.1. Chapitres d'ouvrage	56
6.2.2. Publications internationales.....	56
6.2.3. Communications internationales	57
6.2.6. Conférences sur invitation	57
7 – Programmes d'activité pour les années suivantes	58
7.1. Activités de diagnostic, typage et surveillance	58
7.2. Activités de recherche clinique	58
7.3. Activités de conseil, formation et information	59
7.4. Contribution à l'alerte	59
Annexe 1 - Missions et organisations du CNR	61
1. 1. Missions et objectifs majeurs du CNR	61
1.2. Présentation et moyens du laboratoire associé (2023)	62
1.2.1. Fiche d'identité.....	62
1.2.2. Organisation	63
1.2.3. Moyens affectés au CNR.....	63
1.3. Présentation et moyens du laboratoire coordonnateur (2023).....	67
1.3.1. Fiche d'identité.....	67
1.3.2. Organisation	67
2-2.3. Moyens affectés au CNR	67
1.4. Procédures d'alerte	70

1.4.1. CAT devant un cas cliniquement suspect de poliomyélite antérieure aigue	70
1.4.2. CAT devant un cas d'exposition aux poliovirus	71
1.4.3. Alerte infections à EV non poliomyélitiques	71
Annexe 2 – Capacités techniques du CNR EV-PeV	73
2.1. Laboratoire associé – CHU Lyon (2023).....	73
2.1.1. Liste des techniques disponibles.....	73
2.2.2. Liste des techniques accréditées.....	76
2.2. Laboratoire coordonnateur– CHU Clermont-Fd (2023)	77
2.2.1. Liste des techniques disponibles	77
2.2.2. Liste des techniques accréditées.....	80

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

Après deux années marquées par une diminution du nombre d'infections à entérovirus (EV) et parechovirus (PeV) en raison de la pandémie de COVID-19, l'activité globale du CNREV-PeV en 2022 retrouve le niveau de 2019. A noter cependant quelques laboratoires du réseau de surveillance des entérovirus (RSE) ayant encore des difficultés pour envoyer leurs échantillons de façon régulière.

En 2022, 36 laboratoires du RSE et 28 laboratoires hors RSE ont participé à la surveillance hospitalière des infections à EV. La surveillance virologique de la maladie pied-main-bouche (PMB) en ambulatoire a continué en 2022. Au total, un peu plus de 2100 échantillons cliniques ont été reçus ; 1288 souches EV ont été génotypées chez 1280 patients, soit 74,2% des dossiers patients déclarés par les laboratoires du RSE.

L'épidémie de méningite à EV a été d'ampleur modérée, touchant une proportion plus importante de jeunes enfants (<1 an) par rapport aux années pré-pandémiques. La surveillance de la maladie PMB a montré une faible circulation d'EV-A71. Au total, 126 infections sévères à EV ont été rapportées chez les patients de plus de 28 jours, impliquant l'EV-D68 (37,6% des cas), l'E-11 (17,4%) et le CV-B4 (8,3%). Le fait le plus marquant concerne les infections néonatales à EV, qui ont représenté 25,7% des infections déclarées en 2022, dont 23 sévères et 8 décès. On notera particulièrement la survenue de 6 infections précoces à E-11 avec défaillance hépatique majeure ayant entraîné le décès des nouveau-nés. Un nouveau variant recombinant d'E-11, en circulation depuis Avril 2022, a été identifié chez ces patients. Au total, 9 infections graves à E-11 ont été détectées entre Juillet 2022 et Mars 2023. La gravité des infections et le taux de mortalité élevé sur la période (1,7% en 2022 *versus* 0,4% sur la période 2016-2021) ont donné lieu à une alerte nationale, relayée au niveau européen et international.

Concernant la surveillance de la poliomyélite, l'année a été marquée par la détection prolongée de VDPV-2 dans les eaux usées de pays exempts de polio depuis plusieurs décennies et par la survenue d'un cas de poliomyélite à New-York. Aucun poliovirus n'a été détecté *via* la surveillance humaine en France.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

After two years marked by a drop in the number of enterovirus (EV) and parechovirus (PeV) infections due to the COVID-19 pandemic, the overall activity of the CNREV-PeV in 2022 is returning to the level of 2019. However, some laboratories of the Enterovirus Surveillance Network (ESN) are still having difficulty sending in their samples on a regular basis.

In 2022, 36 ESN laboratories and 28 non-ESN laboratories took part in hospital surveillance of EV infections. The ambulatory virological surveillance of hand, foot and mouth disease (HFMD) continued in 2022. In total, just over 2,100 clinical samples were received at the CNR, and 1,288 EV strains were genotyped in 1,280 patients, representing 74.2% of the patient records reported by the ESN laboratories.

The 2022 epidemic of EV meningitis was moderate in scale, affecting a higher proportion of young children (<1 year) than in pre-pandemic years. Surveillance of HFMD showed little circulation of EV-A71. A total of 126 severe EV infections were reported in non-neonate patients, involving EV-D68 (37.6% of cases), E-11 (17.4%) and CV-B4 (8.3%). The most striking fact concerns neonatal EV infections, which accounted for 25.7% of reported infections in 2022, including 23 severe cases and 8 deaths. Of particular note was the occurrence of 6 fatal early-acquired E-11 infections with major liver failure. A new recombinant variant of E-11, in circulation since April 2022, was identified in these patients. A total of 9 severe E-11 infections were detected between July 2022 and March 2023. The severity of the infections and the high mortality rate over the period (1.7% in 2022 compared with 0.4% over the period 2016-2021) led to a national alert, which was relayed at European and international level.

In terms of polio surveillance, the year was marked by the prolonged detection of VDPV-2 in wastewater from countries that had been polio-free for several decades, and by the occurrence of a case of polio in New York. No poliovirus was detected *via* human surveillance in France.

1. MISSIONS ET ORGANISATION DU CNR entérovirus-parechovirus

En 2022, les missions du CNR ont été assurées par deux laboratoires : Le laboratoire de Virologie du CHU de Lyon (laboratoire coordonnateur, LC) et le laboratoire de Virologie du CHU de Clermont-Ferrand (laboratoire associé, LA). Les fiches d'identité et les capacités techniques des deux laboratoires sont présentées en annexes 1 et 2, respectivement.

Changements effectifs en 2022

Fin 2022, une nouvelle technicienne (1 ETP) a été recrutée au laboratoire de Virologie de Clermont-Ferrand afin d'en remplacer une autre qui a changé d'affectation.

Pour le mandat 2023-2027, deux laboratoires associés (Laboratoire de Virologie du CHU de Lyon et Centre coordonnateur Poliovirus OMS à l'Institut Pasteur) et un laboratoire coordonnateur (Laboratoire de Virologie du CHU de Clermont-Ferrand) composent le CNR.

2. ACTIVITES D'EXPERTISE

Les activités d'expertise sont présentées en tenant compte de la configuration du CNR en 2022 :

- Laboratoire de Virologie du CHU de Lyon (laboratoire coordonnateur, LC)
- Laboratoire de Virologie du CHU de Clermont-Ferrand (laboratoire associé, LA).

Éléments clefs de l'année 2022

- Généralisation du séquençage haut débit sur amplicons des régions génomiques virales codant la capsidie en pratique courante (LC) et du génome complet des EV pour la caractérisation des nouveaux variants (LC et LA)
- Activité de génotypage en hausse (+ 57%) par rapport à 2021, en relation avec une reprise progressive de la circulation des entérovirus

2.1. Evolution des techniques

2.1.1. Laboratoire coordonnateur

Le LC a mis en place le séquençage Illumina sur amplicons des régions 1D (codant pour la protéine VP1) et 1A-1B (codant pour les protéines VP4-VP2) pour le typage de routine des EV après une phase d'évaluation comparative avec la méthode Sanger. L'évaluation est détaillée dans le paragraphe 2.1.3.

Le LC a également mis en place le séquençage des génomes complets d'EV par méthode transcriptomique (séquençage direct de l'ARN à partir des échantillons cliniques). Le séquençage des génomes complets est appliqué principalement pour la caractérisation de souches associées à des cas sévères et de nouveaux variants.

2.1.2. Laboratoire associé

Mise en place du séquençage Illumina sur amplicons de génomes complets

En 2022, un séquençage plus systématique du génome complet de souches représentatives des différentes espèces, et en particulier, des types prédominants et/ou responsables d'atteintes plus sévères a été réalisé (E-11, EV-A71 en particulier). Initialement réalisé avec une méthode « long read » sur séquenceur PacBio (en sous-traitance), le séquençage du génome complet a été appliqué sur des séquenceurs Illumina, disponibles au laboratoire.

Cette méthode a été évaluée à travers des études d'épidémiologie moléculaire des EV de l'espèce A associés à la maladie pieds-mains-bouche et à l'EV-D68 (détail de l'évaluation et des séquences obtenues dans le chapitre 6 et 2.5, respectivement).

2.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

2.2.1. Evaluation de la performance des techniques de détection moléculaire des EV utilisées par les laboratoires du RSE – EEQ 2022

Depuis 2008, le LC du CNR EV-PeV prend en charge financièrement le contrôle de qualité externe (CQE) Entérovirus distribué aux laboratoires du RSE par la société QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics, Glasgow) et assure un suivi global des résultats. Chaque laboratoire reçoit un rapport individuel de la société QCMD et un rapport global est présenté dans le rapport d'activités annuel du CNR. Les problèmes de non-détection ou de défaut de sensibilité occasionnellement mis en évidence vis-à-vis de certains types d'EV font l'objet de signalements de réactovigilance ou sont discutés au cas par cas avec les laboratoires du RSE et/ou les industriels concernés.

En 2022, le panel d'échantillons (Tableau 1) a été distribué à 28 laboratoires : 28 jeux de données complets ont été transmis par 26 laboratoires. Vingt-quatre jeux de données ont été obtenus avec des trousse de RT-PCR temps réel commercialisées : Enterovirus R-gene® (*bioMérieux*) : 10; Cepheid® Xpert EV (*Cepheid*) : 6; RealStar® Enterovirus RT-PCR kit (*Altona Diagnostics*) : 4; Enterovirus ELITE MGB® kit (*ELitech*) : 1; RealCycler® Enterovirus (*Progenie Molecular*) : 1; RIDA®GENE Enterovirus (*R-BioPharm*) : 1; Allplex™ Meningitidis (*Seegene*) : 1. Quatre jeux de données ont été obtenus avec des techniques de RT-PCR temps réel maison. **Pour 85,7% des jeux de données, la réponse était correcte sur les 10 échantillons du « core »** (Figure 1). L'échantillon EVRNA22S-01 (EV-A71/c2) n'a pas été détecté par le test Progenie. L'échantillon EVRNA22S-03 (EV-D68/B3) n'a pas été détecté par le test Cepheid dans 2 jeux de données (33% des jeux de données testés avec ce test). L'échantillon EVRNA22S-09 (EV-D68 / Fermon) n'a pas été détecté par le test Cepheid sur un jeu de données (16,7% des jeux de données testés avec cette technique). Enfin l'échantillon EVRNAS-10 (CV-A9) n'a pas été détecté par le test Progenie.

En 2020 et 2021, les performances des tests utilisés par les laboratoires du réseau avaient été moins bonnes. La principale explication résidait dans le fait que l'EV-D68 du clade B3 (clade majoritaire en Europe depuis 2016) avait mal été détecté par la trousse Cepheid® Xpert EV (échantillon rendu négatif dans 9 des 10 jeux de données utilisant la trousse Cepheid® Xpert EV en 2020 et 10 jeux de données sur 11 en 2021). Ce défaut de détection avait été remonté à Cepheid et partagé avec les partenaires du RSE. L'impact avait été considéré comme faible, puisque que l'EV-D68 est

principalement recherché dans les échantillons respiratoires (et très rarement détecté dans le LCS) et que la trousse Cepheid® Xpert EV n'est validée par le fournisseur que sur le LCS. En 2022, six jeux de données seulement ont été produits avec la trousse Cepheid® Xpert EV avec une performance de détection de l'EV-D68/B3 de 66%, d'où l'amélioration des performances globales pour les laboratoires du RSE.

On regrettera que les panels QCMD soient constitués d'échantillons strictement identiques (dans leur composition) d'une année sur l'autre. Une demande a été faite auprès de QCMD pour le renouvellement des panels en 2023.

2.2.2. Evaluation inter-laboratoires (EIL) pour la détection et le typage de l'entérovirus D68 (EV-D68)

Depuis 2019, une EIL a été mis en place entre les deux laboratoires du CNR (organisation alternée) pour l'évaluation comparative des techniques de détection et de typage de l'EV-D68 :

- **Détection :**
 - o Trousse Rhinovirus/EV r-gene® (bioMérieux) sur Rotor-Gene (LA)
 - o Trousse Enterovirus R-gene® (bioMérieux) sur Rotor-Gene et sur ABI 7500 (LA et LC)
 - o RT-PCR spécifique maison EV-D68 sur ABI et QS (LA et LC)

- **Génotypage**
 - o Séquence 1D partielle (Nix *et al.*, 2008, adaptée) (LA et LC)
 - o Séquence 1D complète (Mirand *et al.*, 2014) (LA et LC)
 - o Séquence 1A-1B (Savolainen *et al.*, 2002) (LA et LC)
 - o Séquence 1A-1B (Linsuwanon *et al.*, 2009, adaptée) (LA et LC)
 - o NGS génome complet par séquençage sur amplicon (LA) et séquençage direct sur ARN (LC)

Les performances des méthodes évaluées sont bonnes et concordantes entre les deux laboratoires du CNR.

2.2.3. Evaluation de trousse

La trousse QIAstat-Dx® Respiratory Panel (*Qiagen*) détectant de manière indifférenciée EV et rhinovirus a été évaluée sur 56 échantillons reçus du CH Gaston Bourret à Nouméa. Les résultats sont présentés dans le tableau 2 ci-dessous selon 3 catégories. Sur la période de collecte des échantillons (Avril à Décembre 2022), elle a détecté principalement des rhinovirus (de 19 types différents) et occasionnellement des EV (de 2 types différents dont l'E-11 variant associé en 2022 aux infections néonatales graves avec défaillance hépatique).

Tableau 2. Types de rhinovirus et EV détectés par la trousse QIAstat-Dx® Respiratory Panel et Xpert®EV sur des échantillons respiratoires

QIAstat + / Xpert + (n=25)	RV-C24 (10), RV-C15 (2), RV-A12 (1), RV-A63 (1), RV-C1 (1), RV-C11 (1), RV-C43 (1), RV-A63/RV-A66 (1), E-11 (2) , CV-B2 (2) , EV/rhino non typable (3)
QIAstat + / Xpert – (n=23)	RV-A66 (4), RV-A22 (1), RV-A49 (2), RV-A78 (1), RV-A89 (1), RV-A101 (1), RV-C11 (1), RV-C21 (1), RV-C24 (1), RV-A49/RV-C43 (1), RV-C47 (1), RV-C54 (1), RV-C15/RV-C43 (1), EV/rhino non typable (8)
QIAstat + / non testés ou inhibés en Xpert (n=8)	RV-A68 (1), RV-C21 (1), RV-C31 (1), RV-A63/RV-A28 (1), RV-C8/ E-11 , E-11 (1) , EV/rhino non typable (1)

2.2.4. Mise en place et évaluation du séquençage Illumina sur amplicons pour le typage de routine des EV

Le séquençage NGS sur amplicons a été introduit en Septembre 2022 pour le typage de routine des EV dans le LC du CNR EV-PeV. Après une phase d'évaluation comparative avec la méthode de séquençage Sanger, il est depuis Janvier 2023 la méthode préférentielle de typage utilisé dans l'actuel LA du CNR EV-PeV.

Principe :

-Amplification des gènes 1D et 1A-1B codant pour les protéines VP1 et VP4-VP2

-Séquençage Illumina sur NOVASEQ

-Analyse des séquences par le pipeline maison SeqMet développé pour l'analyse des séquences de pathogènes microbiens produites au niveau de l'Institut des Agents Infectieux (IAI) du CHU de Lyon

-Identification des EV et PeV par analyse Blast des séquences consensus par rapport à la base de séquences RVDB

-Réalisation de phylogénies complémentaires si le pourcentage d'homologie avec les souches les plus proches est inférieur à 80% ou si le nombre de séquences homologues identifiées par le pipeline est inférieur à 8

Evaluation :

-240 échantillons séquencés en parallèle par la méthode Sanger (avec Blast versus la base de séquences GenBank) et la méthode NGS (avec Blast versus la base de séquences RVDB)

- Nature des échantillons : LCS ; selles ; prélèvements respiratoires ; prélèvements de vésicules cutanées ou buccales ; plasma avec des charges virales comprises entre 21 et 37,9

-Type d'EV identifiés en Sanger : EV-A (n=41; dont CV-A6 (16) ; CV-A10 (7) ; CV-A16 (6) ; CV-A2 (5) ; CV-A4 (4) ; EV-A71 (4)) ; EV-B (n=131 ; dont E-11 (17) ; E-9 (16) ; E-18 (16) ; CV-B4 (14) ; CV-B5 (13) ; E-21 (13) ; E-25 (12) ; CV-B2 (8) ; CV-A9 (4) ; E-3 (3) ; E-31 (3) ; E-4 (2) ; E-6 (2) ; E-15 (2) ; E-33 (2) ; CV-B1 (1) ; CV-B3 (1) ; E-1 (1) ; E-14 (1) ; EV-C (n=7 ; dont CV-A11 (2) ; CV-A19 (2) ; EV-C (2) ; CV-A13 (1)) ; EV-D (n=17 ; tous des EV-D68)

-Type de PeV identifiés en Sanger : PeV-1 (1) ; PeV-3 (7) ; PeV-4 (4) ; PeV-5 (2) ; PeV-6 (1)

Echantillons négatifs : 29

Résultats :

- Concordance : 236/240 (98,3%)

- Echantillons discordants : 1 CV-A10 ; CV-B4, 1 EV-C99 et un E-3 identifié en NGS sur des échantillons négatifs en Sanger (confirmation par ré-analyse)

- Echecs de séquençage Illumina (ayant nécessité la ré-analyse des échantillons) : 5-10%

2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Cf tableau 3

2.4. Collections de matériel biologique

L'organisation, les conditions de stockage et de mise à disposition des collections de matériel biologique du CNR sont décrites dans l'annexe 1.

Depuis le début du mandat actuel (2023-2027), les collections de matériel biologique se sont enrichies d'échantillons cliniques prélevés en 2022-2023, positifs pour la recherche d'entérovirus, de parechovirus et de rhinovirus typés.

Les échantillons de matériel biologique (nombre et nature) distribués par les laboratoires du CNR sont indiqués dans le tableau 4 ci-contre:

2.5. Activités d'expertise

2.5.1 Recherche et identification des entérovirus

Génotypage des entérovirus dans les prélèvements humains

Le typage moléculaire des EV a été réalisé dans les 2 laboratoires du CNR selon une répartition des tâches prédéfinie (attribution à chacun d'un réseau de laboratoires correspondants) et selon des méthodes applicables à des échantillons cliniques ou à des souches isolées en culture cellulaire.

Tableau 5. Activité de génotypage et répartition entre les deux laboratoires du CNR

	Echantillons reçus	Echantillons testés [§]	Patients testés	Patients avec EV et/ou HRV*	Patients avec EV typé	Patients avec HRV typé	Délai médian de rendu des résultats (jours)
Total CNR 2022	2101	1902	1689	1492 (88,3%)	1200	347	-
Laboratoire coordonnateur Lyon	1431	1255	1123	982 (87,4%)	725	299	10 (2-60)
Laboratoire associé Clermont-Ferrand	670	647	566	510 (90,1%)	475	48	7,2 (2,2-28)

* Le génotypage peut conduire à l'identification d'un EV, d'un HRV ou d'une co-infection

§ Lorsque des échantillons sont reçus pour un même patient, le génotypage est tenté en priorité sur les échantillons de LCS et de sang, ce qui peut expliquer la différence entre le nombre d'échantillons reçus et testés.

Tableau 7. Echantillons analysés par le laboratoire associé – 2022

Origine géographique	Echantillons reçus	Echantillons testés	Patients testés	Patients avec EV/HRV testés	Patients avec EV typé	Patients avec HRV typé
03_CH Moulins	1	1	1	1 (100%)	1	0
03_CH Vichy	1	1	1	1 (100%)	0	1
20_CH Bastia	2	2	1	1 (100%)	1	0
25_CHU Besançon	10	9	9	8 (88,9%)	8	0
31_CHU Toulouse	143	133	109	81 (74,3%)	72	9
35_CHU Rennes	15	15	14	13 (92,9%)	12	1
43_CH le Puy	4	4	4	4 (100%)	4	0
45_CH Orléans	17	17	17	17 (100%)	17	0
51_CHU Reims	2	2	1	1 (100%)	2	0
63_CHU Clermont-Fd	139	133	94	85 (90,4%)	78	8
63_CH Issoire	2	2	2	2 (100%)	2	0
64_CH Bayonne	3	3	3	3 (100%)	3	0
75_AP-HP Cochin	102	96	88	78 (88,6%)	76	2
78_CH Versailles	42	42	42	42 (100%)	42	0
80_CHU Amiens	33	33	26	25 (96,2%)	23	2
93_AP-HP Avicenne	4	4	4	3 (75%)	0	3
93_AP-HP Jean Verdier	1	1	1	1 (100%)	1	0
Sous-total Laboratoire associé	521	498	417	366 (87,8%)	342	37
Réseau PMB ^a	149	149	149	144 (96,6%)	133	11
Total Laboratoire associé	670	647	566	510 (90,1%)	475	48

^a Réseau de surveillance ambulatoire de la maladie pieds-mains-bouche (PMB) : 246 prélèvements analysés pour la recherche d'entérovirus dont 149 (60,5%) échantillons positifs.

Nature des échantillons analysés

Les échantillons reçus et analysés pour typage moléculaire par le CNR étaient des échantillons biologiques ou des extraits d'acides nucléiques (figure 2).

Performance du typage

En 2022, un nombre total de 1902 échantillons cliniques, correspondant à 1689 dossiers patients, ont été analysés. L'activité globale se rapproche de celle observée en période pré-COVID.

La performance globale du génotypage, soit la proportion de dossiers patients analysés avec identification, est restée stable par rapport aux années antérieures avec 88,9% de dossiers patients avec identification (figure 3).

La différence de proportion d'échantillons analysés entre les deux laboratoires en 2022 peut s'expliquer par :

- une épidémie de maladie pieds-mains-bouche moindre associée à une surveillance virologique ambulatoire moins soutenue en 2022 par rapport en 2021
- un envoi moins régulier des laboratoires correspondants du CHU de Clermont-Fd. Des échantillons cliniques prélevés en 2022 n'ont été envoyés qu'en 2023 (n=148) et ne sont pas pris en compte dans l'activité 2022
- la prise en compte par le LC des échantillons cliniques de 2022 (n=212) reçus pour génotypage en 2023 (stratégie superposable à celle adoptée depuis le début du co-pilotage de la surveillance par le LC et le LA)
- la participation accrue des laboratoires des territoires ultra-marins à la surveillance en transmettant des échantillons pour typage au LC.
- la participation plus importante des laboratoires partenaires du CHU de Lyon à la surveillance renforcée de l'EV-D68

Diagnostic des infections à EV-D68

Modalités du diagnostic des infections à EV-D68 en 2022

- **CHU Lyon** : recherche systématique ciblée par PCR EV-D68 spécifique sur des prélèvements respiratoires détectés positifs en EV/rhinovirus chez des patients hospitalisés pour infection respiratoire ou neurologique sévère et recherche systématique par PCR EV-D68 spécifique chez les enfants de moins de 10 ans entre Août et Décembre
- **CHU Clermont-Fd** : Recherche par génotypage de tous les prélèvements respiratoires détectés positifs en EV/rhinovirus (Janvier à Décembre)
- Recherche ciblée sur des prélèvements respiratoires détectés positifs en EV ou EV/rhinovirus chez des patients hospitalisés pour infection respiratoire ou neurologique sévère et transmis pour typage au CNR par les partenaires du RSE
- Identification de cas dans le cadre de l'activité de typage moléculaire non ciblée des infections à EV.

Tableau 7. Echantillons analysés pour le diagnostic des infections à EV-D68 en 2022

	Echantillons testés	Patients testés	Infection à EV-D68
Total CNR 2022	2379	2069	122 (6,1%)
Laboratoire coordonnateur Lyon	1738	1452	105 (7,2%)
Laboratoire associé Clermont-Ferrand	641	617	17 (2,7%)

Tableau 8. Provenance des échantillons analysés pour le diagnostic des infections à EV-D68

Centre	Echantillons testés	Patients testés	Infections à EV-D68
Laboratoire coordonnateur – CHU Lyon			
06_CHU Nice	1	1	0
07_CH Annonay	1	1	0
29_CHU Brest	2	2	2
33_CHU Bordeaux	4	1	1
34_CHU Montpellier	12	12	9
37_CHU Tours	2	2	2
38_CH Bourgoin	6	6	0
38_CHU Grenoble	8	7	0
42_CHU St Etienne	5	5	0
59_CHU Lille	15	15	2
67_CHU Strasbourg	17	16	3
69_CHU Lyon	1582	1304	69
69_TGI Lyon	2	2	0
69_CH Villefranche	4	4	0
69_CH TGI Villefranche	1	1	0
75_Paris Necker	39	36	5
75_Paris Trousseau	26	26	11
76_Rouen	11	11	1
Total CHU Lyon	1738	1452	105
Laboratoire associé – CHU Clermont-Ferrand			
25_CHU Besançon	2	2	0
35_CHU Rennes	2	2	2
51_CHU Reims	1	1	1
63_CHU Clermont-Fd	614	590	10
75_AP-HP Cochin	4	4	2
78_CH Versailles	2	2	2
80_CHU Amiens	12	12	0
93_AP-HP Avicenne	4	4	0
93_HP-HP Jean Verdier	0	0	0
Total CHU Clermont-Fd	641	617	17

2.5.2. Recherche des infections à parechovirus

Diagnostic des infections à parechovirus

En 2022, les modalités du diagnostic des infections à parechovirus par les deux laboratoires du CNR ont été :

- Pour les patients du CHU de Lyon : recherche systématique sur tous les LCS reçus à l'Institut des Agents infectieux par la technique FilmArray™ (*bioMérieux*) (depuis Octobre 2020) et recherche ciblée sur les échantillons sanguins des enfants de moins de 3 mois de Juin à Décembre 2022.
- Pour les patients du CHU de Clermont-Ferrand : bilan de fièvre et suspicion d'infection neuro-méningée chez les enfants de moins de 1 an (LCS et sang), bilan d'atteinte neurologique sévère quel que soit l'âge (LCS). Le test Parechovirus R-Gene® (*bioMérieux*) est utilisé.
- Pour tous les patients dont les échantillons ont été adressés par les laboratoires du RSE ou d'autres laboratoires ne réalisant pas ce diagnostic.

Au total, le CNR EV-PeV a analysé 3377 échantillons prélevés chez 3129 patients (tableaux 9-10).

Tableau 9. Activité de diagnostic des infections à parechovirus

	Echantillons testés	Patients testés	Echantillons positifs	Patients avec infection PeV	Délai médian de rendu de résultats (jours)
Total CNR 2022	3377	3129	43	37	
Laboratoire coordonnateur Lyon	3073	2889	30	28 (0,97%)	4 (0-15)
Laboratoire associé Clermont-Ferrand	304	240	13	9 (3,75%)	4 (0-29)

Génotypage des infections à parechovirus

En 2022, le génotypage des parechovirus a été réalisé par les deux laboratoires du CNR. Le génotypage a été possible pour 93,3 % (70/75) des dossiers analysés. Les échecs de typage pour le LC correspondaient à des LCS détectés positifs en FilmArray avec une charge virale probablement faible.

Tableau 11. Activité de génotypage des parechovirus, 2022

	Echantillons testés	Patients testés	Patients avec infection à PeV typé	Délai médian de rendu de résultats (jours)
Total CNR 2022	81	75	70 (93,3%)	-
Laboratoire coordonnateur Lyon	56	54	50 (92,6%)	15 (6-45)
Laboratoire associé Clermont-Ferrand	25	21	20 (95,2%)	11 (6-27)

Tableau 12. Provenance des échantillons analysés pour le génotypage des parechovirus, 2022

Centre	Echantillons testés	Patients testés	Patients avec PeV typé	Types (n)
Laboratoire coordonnateur – CHU Lyon				
1 CH Bourg en Bresse	2	2	2	PeV-3 (1), PeV-5 (1)
14 CHU Caen	4	3	1	PeV-3 (1), PeV-NT (2)
21 CHU Dijon	3	3	3	PeV-3 (2), PeV-4 (1)
26 CH Valence	1	1	1	PeV-3 (1)
29 CHU Brest	1	1	1	PeV-3 (1)
37 CHU Tours	1	1	1	PeV-3 (1)
38 CHU Grenoble	4	4	4	PeV-3 (4)
38 CH Vienne	1	1	1	PeV-3 (1)
41 CH Blois	1	1	1	PeV-3 (1)
42 CHU St Etienne	2	2	2	PeV-3 (2)
49 CHU Angers	1	1	1	PeV-3 (1)
56 CH Lorient	1	1	1	PeV-3 (1)
59 CHU Lille	4	4	4	PeV-3 (1), PeV-4 (2), PeV-5 (1)
62 CH Arras	1	1	1	PeV-3 (1)
67 CHU Strasbourg	1	1	1	PeV-3 (1)
69 CHU Lyon	20	19	18	PeV-3 (14), PeV-4 (3), PeV-5 (1), PeV-NT (1)
71 CH Macon	1	1	1	PeV-1 (1)
75 APHP Trousseau	2	2	2	PeV-3 (1), PeV-5 (1)
76 CHU Rouen	4	4	4	PeV-3 (2), PeV-5 (2)
83 CHI Fréjus	1	1	0	PeV-NT (1)
Total Lyon	56	54	50 (92,6%)	
Laboratoire associé – CHU Clermont-Ferrand				
17_CH Saintonge	1	1	1	PeV-3 (1)
35_CHU Rennes	3	3	3	PeV-3 (2), PeV-5(1)
43_CH Le Puy	1	1	1	PeV-3 (1)
45_CH Orléans	1	1	0	PeV NT (1)
63_CHU Clermont-Fd	7	6	6	PeV-3 (2), PeV-4 (2), PeV-5 (2)
75_AP-HP Robert Debré	2	1	1	PeV-3 (1)
78_CH Versailles	5	5	5	PeV-3 (5)
80_CHU Amiens	4	2	2	PeV-3 (2)
95_CH Cergy Pontoise	1	1	1	PeV-3 (1)
Total CHU Clermont-Fd	25	21	20 (95,2%)	

2.6. Activités de séquençage

Le séquençage de routine des isolats d'EV, PeV et rhinovirus à des fins de santé publique est réalisé par les 2 laboratoires du CNR EV-PeV.

Concernant les infections à EV, le typage moléculaire a pour principaux objectifs : 1) la surveillance des types d'EV associés aux différentes formes cliniques ; 2) la détection d'isolats à fort potentiel épidémique ou associés à une expression clinique plus sévère ; 3) l'investigation de cas groupés (contexte nosocomial) ; 4) la détection de poliovirus fortuite ou ciblée sur de rares cas de PFA, des enfants adoptés ou des réfugiés venant de pays où circule le poliovirus ou des personnels exposés au poliovirus dans un cadre professionnel. Aucune sélection des isolats n'est recommandée *a priori* par le CNR et le degré d'exhaustivité est de 65-75% des infections à EV déclarées par le RSE. Le typage moléculaire est principalement réalisé à partir d'échantillons cliniques et occasionnellement à partir de souches isolées.

En 2022, le typage de routine des EV, PeV et rhinovirus (séquençage partiel de régions génomiques ciblées) a principalement reposé sur la méthode Sanger. Toutefois, depuis Janvier 2023, il est réalisé majoritairement en NGS au CHU de Lyon, après une phase d'évaluation comparative de 4 mois (cf chapitre 2.1 et 2.2.4). Le séquençage Sanger est conservé pour les échantillons urgents (délai d'obtention de séquences post-PCR : 24 heures).

Le typage des génomes complets est réalisé en NGS et de manière ciblée dans les 2 laboratoires.

Les détails et modalités d'analyse pour les deux types de séquençage sont présentés dans les tableaux 13 et 14 ci-après.

2.6.1. Séquençage Sanger

Tableau 13. Activités de séquençage Sanger

Laboratoire coordonnateur en 2022 (CHU Lyon)	Laboratoire associé en 2022 (CHU Clermont-Ferrand)
Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
Séquençage réalisé par un prestataire externe (Microsynth, Vaulx-en-Velin) garantissant un délai de 24h pour le rendu des séquences.	Séquençage réalisé en interne au sein du laboratoire de Virologie du CHU de Clermont-Ferrand Equipement : Séquenceur 3500Dx (Applied Biosystems)
Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
L'analyse bio-informatique des séquences est réalisée par les techniciens et les biologistes du CNR.	
Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
Le séquençage Sanger est réalisé à la fois pour des investigations d'épidémies et à des fins de surveillance. Le génotypage des entérovirus s'inscrit dans le cadre de la surveillance de l'éradication de la poliomyélite et de la surveillance renforcée de certains types d'EV tels que l'EV-A71 ou l'EV-D68, voire d'autres types d'entérovirus émergents et responsables d'infections sévères.	
Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)	
<p>L'analyse bio-informatique des séquences utilise : 1/ Le programme Lasergene (v17) pour l'assemblage et la vérification des séquences ; 2/ Le programme BLAST pour la comparaison des séquences obtenues aux séquences déposées dans GenBank ; 3/ Le programme MEGA 6 pour l'analyse phylogénétique simple des séquences</p> <p>L'analyse BLAST est systématiquement réalisée. Les analyses phylogénétiques sont réalisées : 1/ pour les séquences de rhinovirus ; 2/ sur les souches d'EV et de PEV présentant une homologie inférieure à 80% avec les séquences antérieures ; 3/ sur les souches associées aux épidémies ou des types d'EV particuliers faisant l'objet d'une surveillance spécifique (EV-D68, EV-A71)</p> <p>Des analyses phylogénétiques Bayésiennes sont occasionnellement réalisées avec l'appui de ressources extérieures</p>	<p>La qualité des séquences est évaluée à l'aide du logiciel intégré aux séquenceurs. L'identification est réalisée par analyse BLAST et confirmée par analyse phylogénétique à l'aide du programme MEGA à partir d'un alignement des séquences des souches prototypes.</p> <p>Analyses bio-informatiques conduites : 1) BLAST et analyse phylogénétique pour l'identification primaire des entérovirus, parechovirus et rhinovirus, 2) Analyse phylogénétique simple et plus complexe (bayésienne) pour la recherche de parenté génétique entre des souches d'un même type d'entérovirus, 3) Analyse de la recombinaison génétique par le logiciel Simplot.</p>

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

Pour les investigations d'épidémies, le séquençage en Sanger a été utilisé en première intention afin d'identifier le type d'EV responsable et éventuellement de réaliser une analyse phylogénétique des séquences 1D permettant la sélection, si nécessaire (ex : très grand nombre d'échantillons) des échantillons pour lesquels l'obtention du génome complet est indispensable (divergence observée par rapport aux séquences des souches antérieures, identification de différents lignages, par exemple).

Nombre de séquences réalisées à des fins d'investigations d'épidémies et de surveillance

Nombre de séquences réalisées / souches séquencées	Nombre de séquences réalisées / souches séquencées :
<ul style="list-style-type: none">Entérovirus : 1084Rhinovirus : 598Parechovirus : 54	<ul style="list-style-type: none">Entérovirus : 608Rhinovirus : 531Parechovirus : 20

Modalités de sélection des échantillons séquencés

Lorsque des échantillons sont reçus pour un même patient, le génotypage est en priorité tenté sur les échantillons de LCS et de sang, puis sur les échantillons ayant la charge virale la plus élevée, estimée à partir de la valeur de Ct obtenue en PCR. Dans le cadre de l'investigation des infections à EV associées à des tableaux cliniques sévères, tous les prélèvements détectés positifs en EV ou en EV/HRV sont analysés.

Le typage des EV peut nécessiter la mise en œuvre successive de méthodes de PCR différentes. Le typage des PeV fait appel à une amplification en 2 fragments. Ainsi, le nombre de séquences générées est supérieur au nombre de dossiers patients typés. Les échecs de séquençage représentaient 5 à 12% des amplicons séquencés et étaient liés le plus souvent à une trop faible charge virale ou à des co-infections dans des prélèvements respiratoires.

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génomes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Depuis 2018, les séquences générées dans le cadre de la surveillance des infections à EV et PEV peuvent être mises à disposition des laboratoires collaborateurs sur le site Web du CNR et permettent de relier séquences et données clinico-virologiques des patients. Certaines séquences sont rendues publiques (GenBank) lorsqu'elles ont fait l'objet de publications (nombre de séquences 1D d'E-11 déposées dans le cadre de l'investigation des infections néonatales graves : n=57 (CNR Lyon) ; n=23 (CNR Clermont-Ferrand). Par ailleurs, toutes les séquences brutes et les génomes assemblés sont stockés chronologiquement sur un espace informatique sécurisé et sauvegardé quotidiennement.

2.6.2. Séquençage haut débit

Tableau 14. Activités de séquençage haut débit

Laboratoire coordonnateur en 2022 (CHU Lyon)	Laboratoire associé en 2022 (CHU Clermont-Ferrand)
Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<p>Le LC a accès à la plateforme de séquençage haut-débit genEPII du Centre de Biologie Nord (CBN) dédiée au séquençage des pathogènes microbiens.</p> <p>Equipements disponibles : 3 Mosquito® (SPTLabtech), 2 Dragonfly® (SPTLabtech), 1 Dreamprep® (Tecan), 1 epMotion® (Ependorf) pour la préparation des banques de séquençage ; 2 séquenceurs Illumina (NextSeq 550 et NovaSeq 6000) et 4 séquenceurs ONT (GridION (=1) ; Minion (n=3)) ; 500 To de stockage. Un run hebdomadaire est réalisé pour le typage de routine des EV, PeV et rhinovirus sur amplicons (n=96 échantillons avec capacité éventuelle de 384 échantillons). Un run hebdomadaire est potentiellement réalisable pour le séquençage de génomes complets (par séquençage direct de l'ARN)</p>	<p>Le LA a accès à la plateforme de séquençage haut débit du CHU de Clermont-Ferrand</p> <p>Equipements disponibles : Robots d'extraction et de pipetage, 2 thermocycleurs -2 Séquenceurs MiSeq™ et 1 NextSeq™ (Illumina)</p>
Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<p>L'analyse des données bio-informatiques est réalisée par les biologistes du CNR. Le CNR a l'appui pour cette analyse de l'expertise de 3 ingénieurs bio-informaticiens (chargés aussi du développement du pipeline et de l'actualisation des bases de séquences) et du Dr Josset, MCU-PH, co-responsable de la plateforme genEPII. L'expertise externe du Pr Thierry Wirth (Laboratoire Biologie Intégrative des Populations, EPHE) est sollicitée pour certaines études liées à l'évolution moléculaire des EV</p>	<p>Le traitement des données bio-informatiques est réalisé par Maxime Bisseux, ingénieur du CNR en lien avec l'équipe MED de l'UMR CNRS-6023. La plateforme de séquençage haut-débit dispose également d'un ingénieur bio-informaticien qui peut être sollicité.</p>
Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
<p>Le séquençage haut débit est utilisé pour obtenir le génome complet des entérovirus. Il est donc surtout utilisé à des fins d'investigations d'épidémies. A des fins de surveillance, il peut être utile pour suivre l'évolution moléculaire des types d'EV sous surveillance, en particulier l'EV-A71 et EV-D68.</p>	

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Le traitement des séquences NGS Illumina fait appel au pipeline SeqMet développé en interne (par le Dr Bruno Simon, biologiste médical et bio-informaticien de la plateforme) et utilisé pour l'analyse de toutes les séquences produites au niveau de l'Institut des Agents Infectieux du CHU de Lyon. L'identification des EV, PeV et rhinovirus est réalisée par analyse Blast des séquences consensus versus la base de séquences RVDB. Les résultats obtenus sont compilés dans un fichier de synthèse généré par le pipeline pour chaque run. Ces résultats sont interprétés et validés par les biologistes du CNR avec l'appui des bio-informaticiens de la plateforme. Une formation des techniciens du CNR à l'analyse des données NGS est prévue au dernier trimestre 2023. Toutes les séquences et les fichiers de synthèse sont stockés chronologiquement sur un espace sécurisé et sauvegardé quotidiennement (capacité : 500 To).

Le traitement des données issues du NGS Illumina est réalisé par un pipeline fait maison basé sur l'utilisation d'outils d'analyse de données de séquençage mis gratuitement à la disposition de la communauté bio-informatique. Ce pipeline a été développé par Maxime Bisseux, ingénieur du CNR.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies ou de formes cliniques sévères :

Nombre de séquences de génomes complets obtenues : 12
 En 2023, le génome complet de 12 souches d'E-11 de 2022 a été séquencé dans le cadre de l'investigation de cas groupés d'infection néonatale grave

Nombre de séquences de génomes complets obtenues : 80
 En cas d'épidémie associée à l'émergence d'un potentiel nouveau variant d'un type d'EV, le séquençage du génome complet par NGS permet l'analyse génomique complète et l'analyse de la recombinaison génétique. Seule l'analyse du génome complet permet de caractériser un nouveau variant d'entérovirus.
 En 2022, le génome complet de 32 souches d'echovirus 11 associé à une recrudescence d'infections néonatales a été séquencé. Afin de rechercher d'éventuels partenaires de recombinaison du variant recombinant d'E-11, le génome complet de 48 souches d'entérovirus de l'espèce B a également été séquencé (séquences 2022, séquencées 2023).

Séquençage utilisé à des fins de surveillance	
<p>Nombre de séquences de génomes complets obtenues: 92</p> <p>A des fins de surveillance, le séquençage du génome complet d'EV a été réalisé pour 57 souches d'EV-D68, et 35 souches d'EV associées à des atteintes sévères</p>	<p>Nombre de séquences de génomes complets obtenues : 288</p> <p>A des fins de surveillance, le séquençage des génomes complets des entérovirus est réalisé pour les types d'EV associés à des atteintes sévères ou faisant l'objet d'une surveillance renforcée. En 2022, il a ainsi été réalisé pour 31 et 79 souches d'EV-A71 et EV-D68, respectivement. 178 autres EVA ont aussi été séquencées pour rechercher les partenaires de recombinaison des EVA71.</p>
Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génomes assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?	
<p>Les séquences brutes (fastQ files) et les séquences assemblées sont archivées de manière chronologique sur un espace de stockage sécurisé. Les génomes partiels et assemblés sont déposés sur Genbank essentiellement lorsqu'ils sont associés à une publication. Au total, 8 génomes complets d'E-11 ont été déposés sur GenBank en 2012</p>	<p>Les séquences des génomes assemblés sont déposées dans la banque de données internationale publique, Genbank, lorsqu'elles ont fait l'objet d'une publication.</p> <p>- 281 séquences ont déjà été déposées sur les 368 générées (76%), les séquences restantes (celles des EV-B et EV-D68 le seront une fois leur exploitation terminée).</p>

3. ACTIVITES DE SURVEILLANCE

Éléments clefs de l'année 2022

Bilan global

- 1726 infections à EV diagnostiquées contre 995 en 2021
- Augmentation du nombre d'échantillons analysés (+ 8 à 100 % selon la nature des échantillons) :
 - Echantillons respiratoires (+ 100%) en lien en partie avec la recherche renforcée des infections à EV-D68
 - Sang (+32%) probablement liée à la recrudescence des infections chez les nouveau-nés et nourrissons de moins de 3 mois
- Epidémie estivale de méningites encore de faible ampleur, par rapport à la période pré-COVID
- 53 % des patients avaient moins de 1 an (contre 33 à 40 % pour la période 2016-2021)
- Prédominance de l'E-11, du CV-B4 et de l'EV-D68 représentant 44,6% des EV identifiés

Infections neuro-méningées

- Epidémie de méningites de faible ampleur en 2022 : 1035 infections à EV associées à la détection d'un EV dans le LCS (contre 1495 à 2409 dans les années pré-COVID)
- Proportion plus importante de jeunes enfants (< 1 an : 62% contre 50,4% en 2021 et 35,7% en moyenne pour les années précédentes)
- Prédominance du CV-B4 et de l'E-11 sur la première et 2ème période de l'année, respectivement.

Infections néonatales

- 444 infections néonatales, soit 25,7% des infections à EV, dont 23 sévères et 8 décès
- Prédominance des E-11 et CV-B4
- Détection d'infections néonatales graves avec défaillance hépatique majeure en lien avec un nouveau variant recombinant de l'E-11
- Augmentation de la mortalité (1,8%) par comparaison avec la période 2016-21 (0,4%)

Maladies pieds-mains-bouche / herpangine

- 215 infections dont 140 (65,1%) rapportées via la surveillance ambulatoire
- Prédominance du CV-A6 et CV-A10. Huit infections à EV-A71/c1 ont été retrouvées chez les patients présentant des atteintes cutanéomuqueuses

Infections sévères

- 126 tableaux cliniques sévères hors infections néonatales associés à une infection dont 120 (9,4% des infections à EV hors nouveau-nés) pour lesquels l'imputabilité des EV était probable (n=68) ou possible (n=52)
- 76% des infections sévères sont survenues chez des enfants de moins de 5 ans
- Prédominance des atteintes respiratoires chez les enfants et les adultes
- Atteintes neurologiques sévères dominées par les tableaux convulsifs
- 17 décès (13,3% des infections à EV hors période néonatale)

Infections à EV-A71

- 22 infections rapportées dont 8 (40%) associées à des signes neurologiques.
- Atteintes neurologiques sévères : méningo-encéphalite chronique de l'immuno-déprimé (n=1), encéphalomyélite (n=1)

- Mort fœtale in in-utero (n=1) avec atteinte inflammatoire du placenta

Infections à EV-D68

- Surveillance renforcée en 2022
- 139 infections rapportées (171 en 2021) indiquant une circulation continue de l'EV-D68 sur 2 années consécutives
- Prédominance de ces infections chez les enfants (83,7%)

Poliovirus

- Pas de poliovirus détecté en 2022

Infections à parechovirus

- 117 infections rapportées, contre 60 en 2021
- Tableaux fébriles du nourrisson associés ou non à des signes neurologiques

3.1. Description du réseau de partenaires

3.1.1. Surveillance hospitalière des infections à entérovirus

En 2022, 36 laboratoires du RSE (Figure 4, tableau 15) ont participé à la surveillance nationale des infections à EV en transmettant :

- Le nombre, la nature des prélèvements et le profil des patients analysés
- Les résultats du diagnostic virologique et les données démographiques et cliniques pour les patients avec infection à EV confirmée
- Les échantillons cliniques positifs à EV pour typage ou les résultats de typage obtenus *in-situ*, 3 laboratoires assurant le génotypage en plus des deux laboratoires du CNR

Parallèlement, 28 laboratoires hors RSE, dont 3 laboratoires des départements et régions d'outre-mer (DROM), ont participé à la surveillance en transmettant des échantillons cliniques pour génotypage à l'un des laboratoires du CNR.

L'ensemble des données sont collectées dans une base de données spécifique accessible aux membres du RSE et sur le site web du CNR depuis 2013.

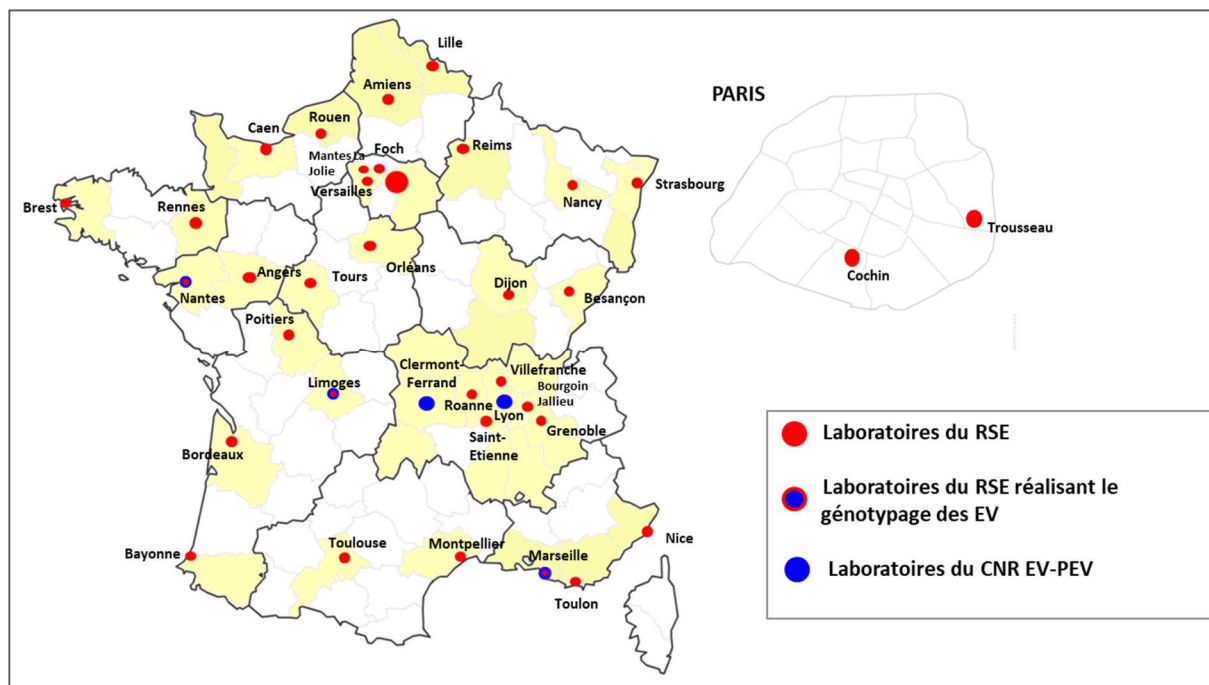


Figure 4. Laboratoires participants du RSE, 2022

3.1.2. Surveillance ambulatoire de la maladie pieds-mains-bouche

Afin de surveiller la circulation de l'EV-A71, une surveillance spécifique de la maladie pieds-mains-bouche a été mise en place en ambulatoire depuis 2014 au niveau national. Depuis 2017, la création du réseau PARI, (Panel Ambulatoire de Recherche en Infectiologie) coordonnée par l'ACTIV (Association Clinique et Thérapeutique Infantile du Val de Marne) permet la surveillance syndromique de cette maladie. Au sein du réseau PARI, les pédiatres volontaires peuvent réaliser une surveillance virologique en réalisant des écouvillonnages de bouche ou de gorge qu'ils transmettent au laboratoire du CNR à Clermont-Ferrand.

En 2022, 33 pédiatres (contre 50 en 2021) ont participé à la surveillance virologique en transmettant au moins un prélèvement pour recherche d'entérovirus (figure 5).

3.2. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.2.1. Bilan clinico-épidémiologique et virologique

Le bilan clinico-virologique des infections porte sur les infections rapportées par le RSE dans le cadre de la surveillance hospitalière. Ce bilan a été établi à partir des données saisies en ligne par les laboratoires du RSE au 19 Avril 2023.

Echantillons biologiques analysés et répartition par classe d'âge

Le bilan annuel fait état de **92165 échantillons biologiques analysés en 2022 (contre 58 830 en 2021)** (LCS : +8% ; selles : +10% ; sang : +32% ; respiratoires : x2). La répartition par nature des échantillons analysés et des échantillons positifs est présentée dans le tableau 16 ci-contre.

Distribution hebdomadaire des infections à EV

La **distribution hebdomadaire** des cas d'infections à EV rapportés par les laboratoires du RSE en 2022 est représentée en figure 6 ci-dessous.

Au total, **1726 cas** d'infections à EV ont été déclarés en 2022 et la courbe épidémiologique montre que le niveau de circulation des EV (notamment estival) est toujours en deçà des années pré-COVID-19.

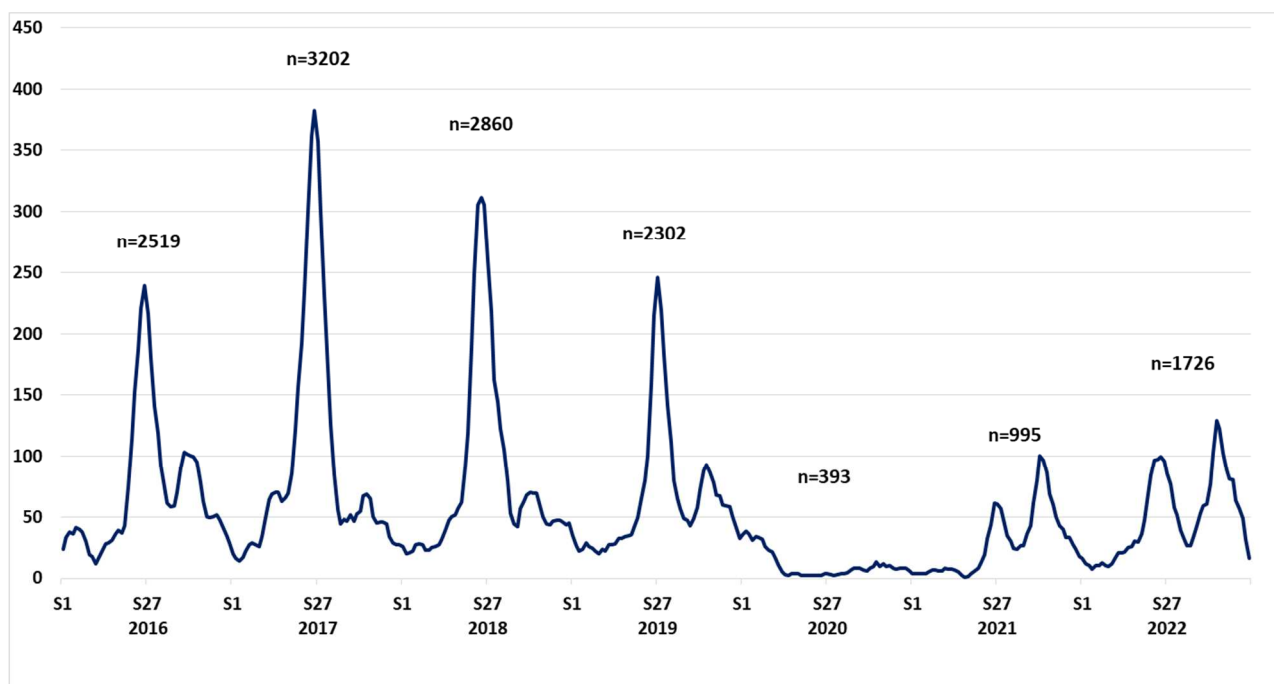


Figure 6. Distribution hebdomadaire des cas d'infections à EV, RSE, années 2016-2022

Caractéristiques démographiques

Le sexe ratio des patients était de 1,42 en 2022 (M/F : 1012/714). La répartition des patients par classe d'âge est présentée dans la figure 7.

Données cliniques

Des **informations cliniques** étaient disponibles pour **71%** (n=1225/1726) des dossiers patients rapportés en 2022 (contre 76,5% en 2021). La répartition des manifestations cliniques est présentée dans le **Tableau 18**.

Typage moléculaire

Le géotypage est réalisé par les 2 laboratoires du CNR et 3 autres laboratoires : Limoges, Nantes, et Marseille.

Tableau 19 – Performances du typage moléculaire (période 2020-2022)

	2020	2021	2022
% de dossiers séquencés parmi les dossiers déclarés par le RSE	62,2%	53,6%	81,7%
% de dossiers avec EV identifiés parmi les dossiers analysés	81,8%	89,1%	90,8%
% de dossiers avec EV identifiés parmi les dossiers déclarés par le RSE	50,9%	47,7 %	74,2%

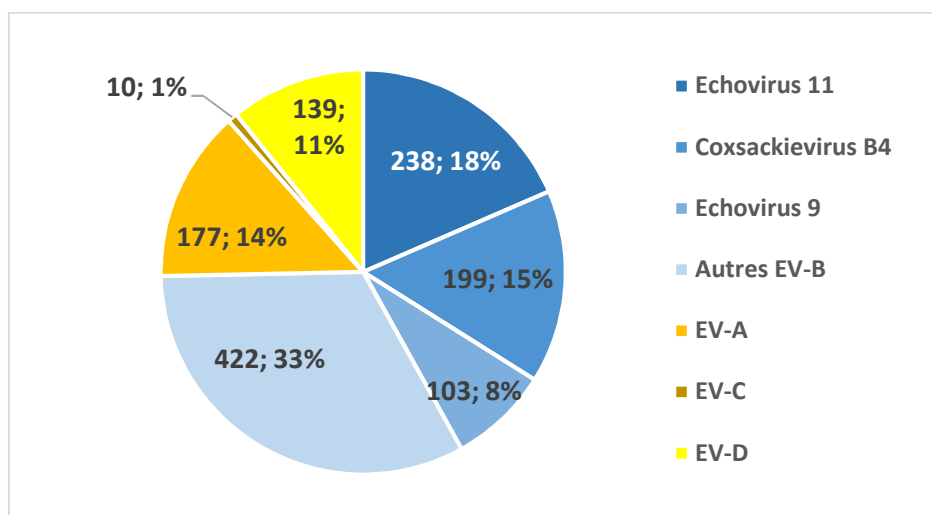


Figure 8. Distribution globale des types associés aux infections à EV déclarées par le RSE en 2022 (n= 1288 virus identifiés)

Les 3 types d'EV prédominants en 2022, E-11, CV-B4 et EV-D68, représentaient 44,6% des EV identifiés en 2022. Leur circulation a largement contribué aux profils cliniques observés en 2022 et détaillés ci-après.

3.2.2. Bilan clinico-épidémiologique par syndrome

Infections neuro-méningées

En 2022, les 36 laboratoires du RSE ont rapporté un nombre total de LCS analysés de 23960. Le nombre de LCS positifs à EV était de 1000 (4,2% contre 6,8% en 2021) (Tableau 21). Les données démographiques et cliniques ont été rapportées pour 992 (95,8%) des dossiers d'infections avec détection d'EV dans le LCS

L'épidémie de méningites en 2022 s'est caractérisée par un pic estival plus précoce (S25) que les années précédentes mais dont l'ampleur, minime, n'a pas atteint le niveau antérieur à 2020. Le pic automnal (S44) était d'ampleur similaire aux années précédentes (figure 9). Les données étaient concordantes avec celles du dispositif OSCOUR/Santé publique France (figure 10).

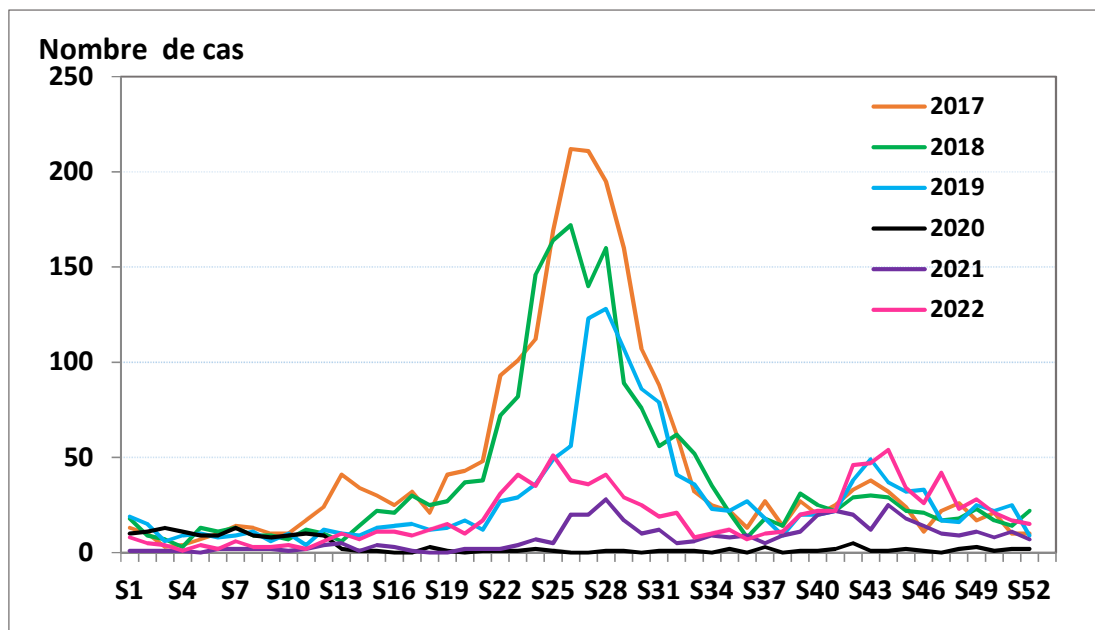


Figure 9. Distribution hebdomadaire des LCS positifs à EV, RSE, 2022

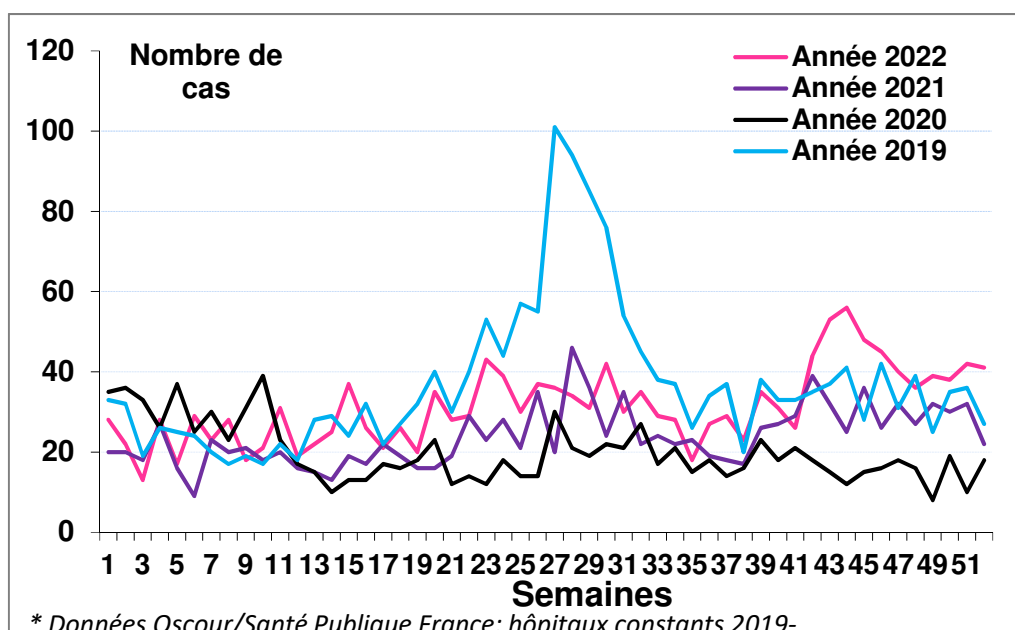


Figure 10. Nombre de passages aux urgences pour méningites à entérovirus, 2019-2022 (données OSCOUR)

Répartition par tranche d'âge

Les **données démographiques** étaient disponibles pour toutes les infections rapportées avec détection d'EV dans le LCS (figure 11). Les enfants de moins de 1 an ont représenté 62% (614/992) des patients, dont 355 (36%) nouveau-nés et 233 (23%) nourrissons de moins de 1 an. Par rapport aux années précédentes, la proportion d'enfants de moins de 1 an et en particulier des nouveau-nés est plus importante (figure 12). Ceci pourrait être notamment expliqué par 1) la faible circulation des EV en 2020-2021, ayant entraîné une augmentation de la population non immunisée contre les EV et 2) par une recherche plus systématique des EV chez les jeunes enfants de moins de 1 an présentant une fièvre isolée ou un tableau de sepsis.

Données cliniques

Les données cliniques étaient disponibles pour 676/992 (68,1%) des patients avec détection d'EV dans le LCS (tableau 22).

Tableau 22. Signes cliniques associés aux infections neuro-méningées avec détection d'EV dans le LCS en 2022 (n=676)

Signes cliniques	2022	
	Nombre de patients	%
Fièvre	608	89,9%
dont fièvre isolée	127	18,8%
Signes neurologiques	497	73,5%
dont syndrome méningé	146	21,6%
dont irritabilité	157	23,2%
dont céphalées	169	25%
Méningite biologique	235	34,8%
Signes respiratoires	129	19,1%
Signes cardio-vasculaires / sepsis	42	6,2%
Signes cutanéomuqueux	28	4,1%
Signes digestifs	173	25,6%
Signes ophtalmologiques	3	0,4%

Distribution des types d'EV identifiés dans les infections neuro-méningées à LCS EV+

Le typage moléculaire réalisé pour 745/992 (75,1%) des dossiers patients ayant eu un LCS EV+ a permis d'identifier un EV pour 637/745 (86%) des dossiers analysés, dont 565/637 (88,7%) directement à partir du LCS. Les EV-B étaient prédominants et représentaient 96,4% des EV identifiés. **Le CV-B4 et l'E-11 étaient les deux types prédominants mais avec une répartition différente sur l'année (figure 13)**. Au cours du 1^{er} semestre, le CV-B4 représentait 33% (72/218) des types identifiés contre 7 % (30/421) au cours du 2^{ème} semestre. L'E-11 était prédominant sur le 2^{ème} semestre avec 29 % (124/421) des types identifiés (contre 8%, 17/218 au premier semestre) (figure 14).

L'E-11 était prédominant chez les nourrissons (< 24 mois) (tableau 23) ; le CV-B4 et l'E-11 étaient prédominants chez les patients présentant des signes neurologiques, tout âge confondu.

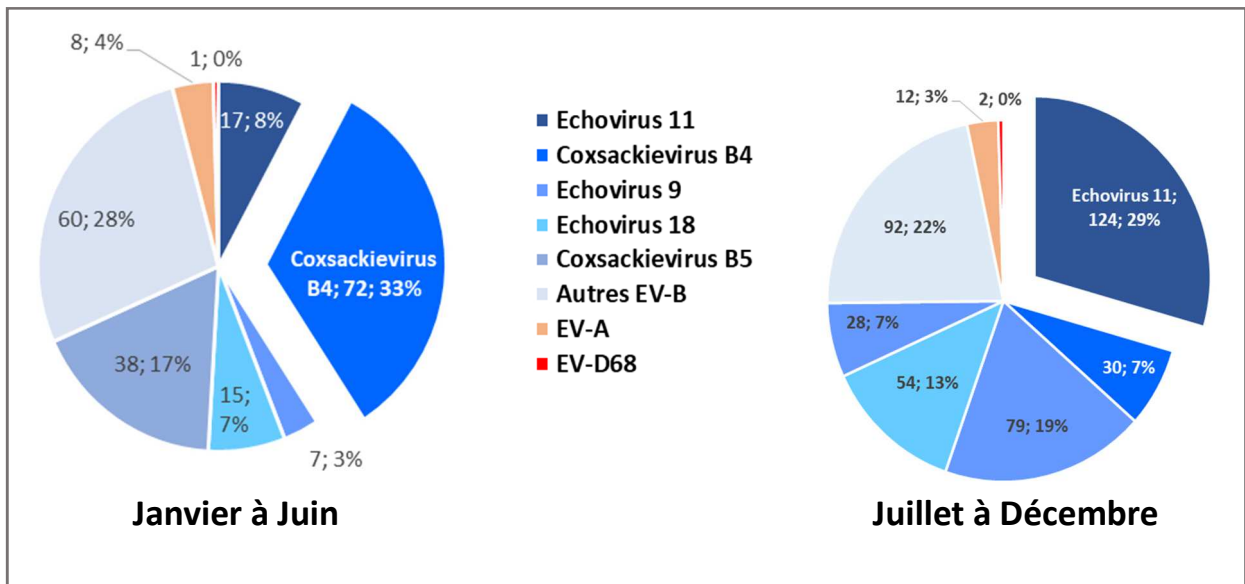


Figure 14. Distribution des types d'EV associés aux infections à LCS EV+ déclarés par le RSE selon le semestre de l'année 2022 (n=639)

Tableau 23. Top 5 des types d'EV identifiés chez les patients avec LCS EV+, 2022

Ayant présenté des signes neurologiques			de moins de 24 mois		
CV-B4	68	18,5 %	E-11	121	29,1%
E-11	64	17,5 %	E-9	70	16,8%
E-9	57	15,5%	CV-B4	61	14,7%
E-18	38	10,4%	CV-B2	44	10,6%
CV-B5	45	12,3%	CV-A9	35	8,4%

Infections néonatales

Une infection à EV a été rapportée chez 444 nouveau-nés soit 25,7% (444/1726) des patients ayant présenté une infection à EV en 2022 (contre 12,8% sur la période 2016-2021). Du fait d'une alerte sur les infections néonatales sévères, la proportion de dossiers avec renseignements cliniques disponibles et avec typage s'est améliorée par comparaison aux deux années précédentes (figure 15).

L'augmentation de la proportion d'infections néonatales s'explique probablement par l'augmentation du réservoir pédiatrique et maternel non immun lié aux mesures barrière anti-COVID et par la circulation consécutive de deux types d'EV prédominants : CV-B4 puis E-11 (Figure 16).

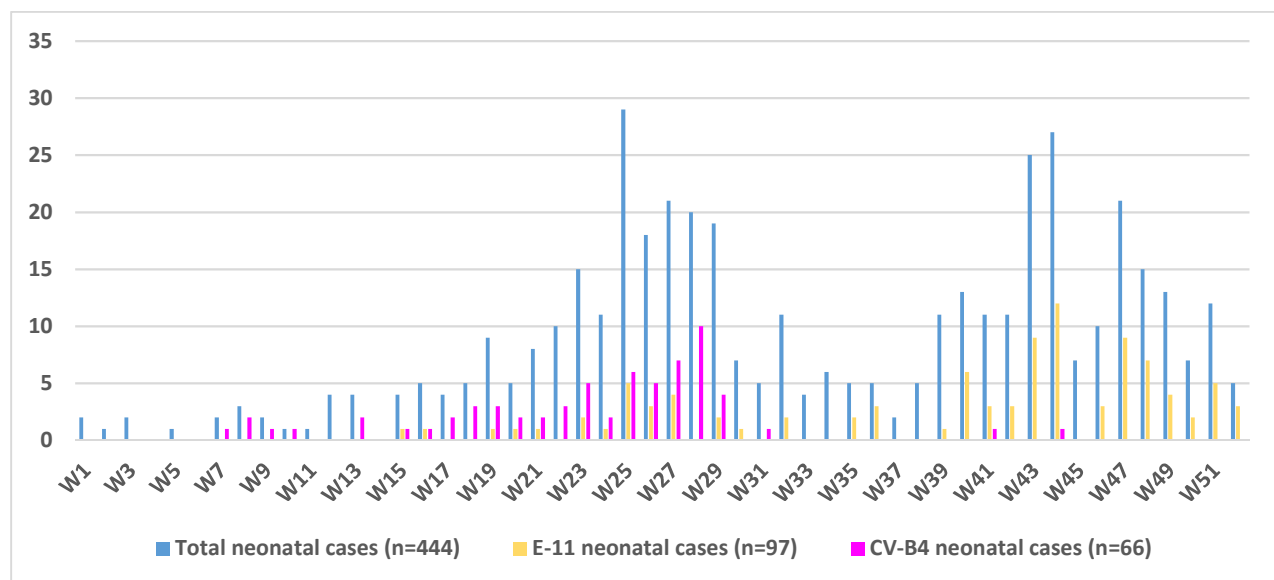


Figure 16. Distribution hebdomadaire des infections néonatales à EV, 2022

Pour 80% (355/444) des nouveau-nés, le génome a été détecté dans le LCS. Les signes cliniques, disponibles pour 75,2% (334/444) des patients (contre 69,7% en 2021), sont présentés dans le tableau 24. La médiane d'âge des patients était de 16 jours (1–28 jours). Les infections chez les nouveau-nés de moins de 8 jours représentaient 20,5% (91/444) de la totalité des infections néonatales à EV. Vingt-trois (5,1%) patients ont présenté une infection sévère (contre 3,5 % pour la période 2016-2021) (Tableau 25). Huit décès ont été rapportés, dont 6 chez 3 paires de jumeaux ayant présenté des infections graves à E-11 associées à des défaillances hépatiques majeures et deux décès au décours de chocs cardiogéniques à CV-B4. L'augmentation de la mortalité en 2022 (1,8% (8/444) contre 0,4% (7/1774) pour la période 2016-2021) et de la sévérité clinique des infections à E-11 ont fait l'objet d'alertes nationale et internationale en 2023, décrites au chapitre 4.1. et d'une publication (Grapin et al. , Eurosurveillance, 2023).

Le géotypage, réalisé pour 87,6% (389/444) des cas d'infections néonatales, a permis l'identification de l'EV pour 81,7% (318/389) des dossiers analysés et 71,6% (318/444) des infections néonatales rapportées par le RSE. Les 5 types les plus fréquents sont présentés dans le tableau 26.

Tableau 25 – Infections néonatales sévères: données cliniques et virologiques (n=23)

Hôpital	Mois	Age (jours)	Sexe	Présentation clinique	Décès	Echantillons EV +	Type
CHU Besançon	10	4	F	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS	E-11
CHU Brest	6	5	F	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS, selles, ECNP	CV-A9
CHU Brest	10	19	F	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS, selles	E-11
CHU Nantes	3	6	M	Sepsis sévère	Non	LCS, sang, ANP	CV-B4
CHU Nantes	11	27	F	Syndrome brady-apnéique au décours bronchiolite avec syndrome alvéolaire bilatéral	Non	selles, ECNP	EV-D68/B3
CHU Lille	11	8	F	Choc cardiogénique- ECMO pendant 43 jours- Evolution vers dysfonction bi-ventriculaire- Décès à 4,5 mois	OUI	sang, ANP	CV-B4
CHU Clermont-Fd	12	6	M	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS, selles	E-11
CHU Clermont-Fd	12	25	M	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS, selles	E-11
CHU Lyon	2	4	M	Hépatite sans insuffisance hépato-cellulaire. Thrombopénie sévère et CIVD	Non	LCS, selles, ECNP	CV-B4
CHU Lyon	6	4	M	Syndrome brady-apnéique	Non	sang, selles, ANP	CV-B4
CHU Lyon	7	7	M	Choc cardiogénique, CIVD avec syndrome hémorragique, SDRA. Infections concomitantes à <i>Enterobacter cloacae</i> et COVID. Décès à J7	OUI	sang, ECNP	CV-B4
CHU Lyon	12	5	F	Syndrome brady-apnéique, thrombopénie sévère, cytolyse hépatique modérée	Non	LCS, sang, ECNP	E-11
CHU Necker	8	17	F	Rhombencéphalite	Non	LCS, selles	E-9
CHU Necker	12	5	M	Choc cardio-vasculaire, cytolysé hépatique avec IHC, CIVD, IRA, décès par défaillance multi-viscérale à J33	OUI	Plasma, selles, ECNP	E-11
CHU Necker	12	5	M	Choc cardio-vasculaire, cytolysé hépatique avec IHC, CIVD, IRA, décès par défaillance multi-viscérale à J40	OUI	Plasma, selles, ECNP	E-11
CHU Cochin	10	6	M	Entérocolite, choc hypovolémique réfractaire, HTA pulmonaire massive, IRA, thrombopénie sévère. Décès par ACR à J6.	OUI	Plasma, biopsies psoas, foie, poumon	E-11
CHU Cochin	10	6	M	Détresse respiratoire, choc hypovolémique, cytolysé hépatique majeure, CIVD. Décès à J7 par défaillance multi-viscérale	OUI	Plasma	E-11
CHU Trousseau	6	6	M	Détresse respiratoire	Non	LCS, selles	E-3
CHU Trousseau	8	2	M	Hypoxémie réfractaire avec HTAP. Choc cardio-vasculaire	Non	Sang	E-11
CHU Rouen	7	3	M	Choc hypovolémique, CIVD. Décès par défaillance multi-viscérale à J5	OUI	LCS	E-11
CHU Rouen	7	3	M	Choc hypovolémique, CIVD. Décès par défaillance multi-viscérale à J5	OUI	LCS	E-11
CH Toulon	11	4	F	Détresse respiratoire	Non	LCS, sang	Typage impossible
CH Toulon	11	10	M	Détresse respiratoire	Non	LCS	Typage impossible

Abréviations : LCS, liquide cébrospinal ; ANP, aspiration nasopharyngée ; CIVD, Coagulation intra-vasculaire disséminée, ECNP, Ecouvillon nasopharyngé ; IHC, Insuffisance hépato-cellulaire ; HTAP, hypertension artérielle pulmonaire ; IRA, Insuffisance rénale aiguë

Maladie pieds-mains-bouche

En 2022, une infection à EV associée à une maladie pieds-mains-bouche (PMB), une herpangine ou une éruption vésiculeuse a été rapportée chez 215 patients, dont 140 issus de la surveillance ambulatoire et 75 de la surveillance hospitalière (23 laboratoires RSE). Après une année 2021 caractérisée par une épidémie de grande ampleur, les pics épidémiques observés en 2022 étaient minimes (figure 17).

La médiane d'âge des patients était de 2 ans (7 jours-74 ans) avec une prédominance des enfants âgés de 1 à 4 ans (figure 18). Le génotypage réalisé pour 204/215 (94,9%) des patients a permis l'identification d'un EV chez 194 patients (95 %), soit 90,2 % des infections associées à une maladie PMB/herpangine. Les entérovirus de l'espèce A représentaient 87,7% (179/204) des cas. Les CV-A6 et CV-A10 étaient majoritaires. L'EV-A71 a été identifié dans 4% (8/204) des cas (figure 19).

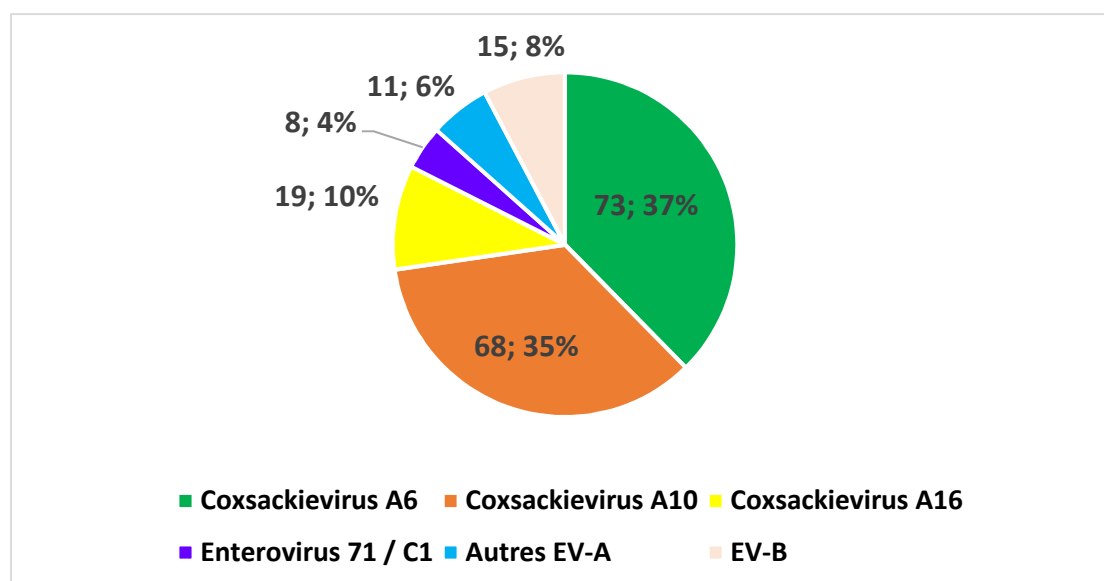


Figure 19. Distribution des types d'EV associées à des maladies PMB/herpangine en 2022 (n=194)

Parmi les 199 patients pour lesquels la donnée « hospitalisation » était connue, 37 (18,5%) ont été hospitalisés. La médiane d'âge des patients hospitalisés était de 1,75 an (7 jours – 47 ans). Les données cliniques étaient disponibles pour 36/37 des patients hospitalisés. Les signes neurologiques associés à ces atteintes cutanéomuqueuses étaient dominés par l'irritabilité, des céphalées et des convulsions. Les CV-A6 et A10 étaient majoritairement retrouvés.

Une infection à EV-A71 a été détectée chez 8 patients dont 2 patients hospitalisés âgés de 2 à 5 ans et présentant des signes neurologiques de type méningite ou myoclonies. Une infection à EV-A71 a également été associée à une mort fœtale *in utero* avec découverte de dépôts fibrinoïdes au niveau du placenta. La patiente avait présenté une maladie PMB une semaine avant le diagnostic.

Le sous-génotype C1 variant 2015 était le seul sous-génotype détecté.

Analyse globale

Globalement, les objectifs de la surveillance des tableaux cliniques sévères sont :

- De décrire tous les tableaux potentiellement imputables aux EV et de sensibiliser les cliniciens, les biologistes et les pouvoirs publics à cette problématique
- D'alerter sur toute augmentation anormale des cas et d'élaborer des recommandations sur le type de prélèvements à réaliser pour le diagnostic et le typage des cas.

En 2022, 149 tableaux cliniques sévères associés à une infection à EV ont été rapportés par le RSE, dont 126 chez des patients âgés de plus de 28 jours (figure 20). En 2022, pour 6 (4,7%) des patients de plus de 28 jours, nous avons considéré l'implication de l'EV comme fortement improbable (autre étiologie prépondérante, détection de l'EV dans un échantillon sans rapport avec l'expression clinique). Pour 68 (54%) patients, l'EV a été considéré comme l'étiologie probable (détection de l'EV dans le LCS ou le sang +/- identification par typage, détection d'un EV-A71 y compris dans un prélèvement périphérique isolé et expression neurologique, détection d'un EV-D68 et expression respiratoire ou neurologique de type myélite). Pour 52 (41,3%) patients, l'implication de l'EV dans la présentation clinique sévère a été considérée comme possible (détection +/- identification d'un EV - sauf EV-A71/EV-D68- dans un prélèvement périphérique, cas de mort subite inexplicée du nourrisson sans données d'autopsie). Seuls les cas probables/possibles ont été retenus pour l'analyse viro-clinique ci-après.

Les motifs d'hospitalisation et les principaux signes cliniques associés aux infections sévères chez les patients de plus de 28 jours étaient disponibles pour 100% des patients (Figure 21). Contrairement aux années précédentes, les tableaux respiratoires étaient prépondérants aussi bien chez les enfants que chez les adultes. Si l'on compare 2021 et 2022, la proportion d'EV-D68 parmi les cas avec EV typé était similaire (37% en 2022 contre 45% en 2021).

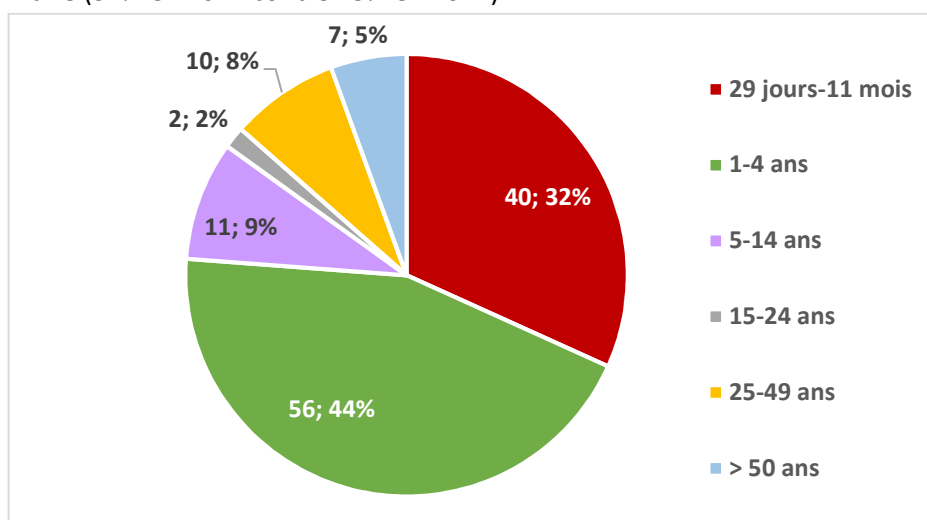


Figure 21. Répartition par tranches d'âge des cas d'infections sévères à EV (n=120)

Le génotypage a été réalisé pour 95,5% des dossiers déclarés et une identification a pu être obtenue pour 87,9% des dossiers analysés.

Sur la globalité de la période, les 3 types d'EV les plus fréquemment associés à des présentations cliniques sévères étaient l'EV-D68 (37,6%), l'E-11 (17,4%) et le CV-B4 (8,3%). Tous les autres types ont été identifiés chez moins de 5,5% des patients.

Tableau 27. Infections pédiatriques à EV associées à des tableaux cliniques sévères (29 jours -17 Ans)

Signes cliniques	2016 (N=128)		2017 (N=64)		2018 (N=84)		2019 (N=112)		2020 (N=31)		2021 (N=61)		2022 (N=103)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Signes neurologiques	63	49,2%	49	76,6%	57	67,9%	77	68,8%	18	58,1%	35	57,4%	41	39,8%
<i>dont Convulsions sévères isolées</i>	5	3,9%	20	31,3%	17	20,2%	24	21,4%	5	16,1%	16	26,2%	27	26,2%
<i>Syndrome cérébelleux/cérébellite</i>	8	6,3%	8	12,5%	8	9,5%	16	14,3%	1	3,2%	5	8,2%	2	1,9%
<i>Encéphalite/rhombencéphalite</i>	27	21,1%	15	23,4%	18	21,4%	20	17,9%	5	16,1%	8	13,1%	7	6,8%
<i>ADEM/REM/myélites/polyradiculo-névrites/ Guillain-Barré</i>	21	16,4%	6	9,4%	16	19,0%	15	13,4%	6	19,4%	5	8,2%	4	3,9%
<i>Encéphalopathie</i>	1	0,8%			1	1,2%	1	0,9%					2	1,9%
<i>Paralyse faciale isolée</i>	1	0,8%			1	1,2%	1	0,9%	1	3,2%	1	1,6%		
Signes respiratoires	43	33,6%	4	6,3%	15	17,9%	11	9,8%	8	25,8%	23	37,7%	48	46,6%
<i>dont Asthme sévère</i>	26	20,3%			6	7,1%	2	1,8%	4	12,9%	12	19,7%	25	24,3%
<i>Bronchiolite sévère</i>	3	2,3%			1	1,2%			2	6,5%	6	9,8%	5	4,9%
<i>Syndrome brady-apnéique</i>	1	0,8%	1	1,6%	2	2,4%	4	3,6%			1	1,6%	5	4,9%
<i>Pneumopathie hypoxémiante</i>	3	2,3%					1	0,9%	1	3,2%	3	4,9%	4	3,9%
<i>Autres détresses respiratoires aiguës</i>	10	7,8%	3	4,7%	6	7,1%	4	3,6%	1	3,2%	1	1,6%	10	9,7%
Signes cardiaques ou cardio-vasculaires	17	13,3%	6	9,4%	7	8,3%	16	14,3%	8	25,8%	4	6,6%	18	17,5%
<i>dont Sepsis sévère/ choc cardio-vasculaire</i>	13	10,2%	3	4,7%	3	3,6%	10	8,9%	1	3,2%	2	3,3%	6	5,8%
<i>Myocardite/ choc cardiogénique/péricardite</i>	4	3,1%	2	3,1%	2	2,4%	4	3,6%	4	12,9%	1	1,6%	6	5,8%
<i>Défaillance multi-viscérale</i>							1	0,9%	1	3,2%			1	1,0%
<i>Arrêt cardio-respiratoire</i>			1	1,6%	2	2,4%	1	0,9%	1	3,2%	1	1,6%	6	5,8%
Signes cutanéomuqueux	1	0,8%	1	1,6%	1	1,2%			1	3,2%				
<i>SPMB/érosions buccales sévères</i>	1	0,8%	1	1,6%					1	3,2%				
<i>Eczéma coxsackium</i>					1	1,2%								
Signes digestifs/hépatiques	2	1,6%	1	1,6%	1	1,2%	4	3,6%					1	1,0%
<i>GEA sévère</i>			1	1,6%			1	0,9%						
<i>Hépatite fulminante/défaillance hépatique</i>					1	1,2%	2	1,8%						

<i>Décompensation ascitique</i>							1	0,9%						
<i>Entérocolite</i>													1	1,0%
<i>Pancréatite</i>	2	1,6%												
Autres tableaux							3	2,7%					1	1,0%
<i>Trismus</i>							1	0,9%						
<i>Décompensation surrénalienne</i>							1	0,9%						
<i>Décompensation acidémie propionique</i>													1	1,0%
<i>Décompensation acidocétonique</i>							1	0,9%						
Décès	9	7,0%	5	7,8%	8	9,5%	8	7,1%	4	6,7%	2	3,3%	14	13,6%
<i>Mort subite du nourrisson (ou décès inexpliqué)</i>	3	2,3%	4	6,3%	3	3,6%					1	1,6%	9	8,7%
<i>Arrêt cardio-respiratoire</i>	2	1,6%	1	1,6%	3	3,6%			2	6,5%	1	1,6%	2	1,9%
<i>Défaillance multi-viscérale</i>									2	6,5%				
<i>Choc cardiogénique</i>														
<i>Encéphalite/encéphalopathie</i>					2	2,4%							3	2,9%
<i>Choc cardio-vasculaire</i>	1	0,8%												
<i>Détresse respiratoire aiguë</i>	2	1,6%												
<i>Syndrome d'activation macrophagique</i>	1	0,8%												

Abréviations : ADEM : encéphalo-myélite aiguë disséminée ; REM : rhombencéphalomyélite

Tableau 28. Infections à EV associées à des tableaux cliniques sévères chez l'adulte (≥ 18 ans)

Signes cliniques	2016 (N=14)		2017 (N=17)		2018 (N=33)		2019 (N=23)		2020 (N=14)		2021 (N=4)		2022 (N=17)	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Signes neurologiques	6	42,9%	12	70,6%	14	42,4%	16	69,6%	7	50,0%	2	50,0%	4	23,5%
<i>dont Convulsions sévères isolées</i>	1	7,1%	2	11,8%	1	3,0%	1	4,3%						
<i>Syndrome cérébelleux/cérébellite</i>					1	3,0%								
<i>Encéphalite/rhombencéphalite</i>	4	28,6%	8	47,1%	8	24,2%	10	43,5%	5	35,7%			1	5,9%
<i>ADEM/REM/myélites/polyradiculonévrites/Guillain-Barré</i>	1	7,1%	2	11,8%	5	15,2%	4	17,4%			1	25,0%	2	11,8%
<i>Encéphalopathie</i>													1	5,9%
<i>Paralysie faciale isolée</i>									2	14,3%				
<i>Méningite chronique (Bruton)</i>							1	4,3%						
<i>Syndrome confusionnel</i>											1	25,0%		
Signes respiratoires	5	35,7%	2	11,8%	14	42,4%	3	13,0%	2	14,3%			7	46,4%
<i>dont Asthme sévère</i>													3	17,6%
<i>Exacerbation BPCO</i>					1	3,0%			1	7,1%			1	5,9%
<i>Pneumopathie (hypoxémiante)</i>	2	14,3%	1	5,9%	8	24,2%	2	8,7%						
<i>Autres Détresses respiratoires aiguës</i>	3	21,4%	1	5,9%	5	15,2%	1	4,3%	1	7,1%			3	17,6%
Signes cardiaques ou cardio-vasculaires	3	21,4%	3	17,6%	9	27,3%	4	17,4%	5	35,7%	1	25,0%	6	35,3%
<i>Myocardite/choc cardiogénique</i>	1	7,1%	2	11,8%	2	6,1%	4	17,4%	1	7,1%	1	25,0%	4	23,5%
<i>Péricardite</i>			2	11,8%	1	3,0%							1	5,9%
<i>Décompensation cardio-respiratoire/ choc cardio-vasculaire</i>	1	7,1%			5	15,2%			3	21,4%			2	11,8%
<i>Défaillance multi-viscérale</i>	1	7,1%			2	6,1%			1	7,1%				
Signes cutanéomuqueux									2	14,3%				
<i>PMB/érosions buccales sévères</i>									2	14,3%				
Signes hépatiques														

Cytolyse hépatique sévère									1	7,1%				
Autres tableaux											1	25,0%	2	11,8%
Décompensation surrénalienne											1	25,0%		
Mort fœtale in-utero	1	7,1%											2	11,8%
Décès	1	7,1%	1	5,9%	4	12,1%			1	7,1%	1	25,0%	2	11,8%
Myocardite/choc cardiogénique					1	3,0%					1	25,0%	1	5,9%
Défaillance multi-viscérale	1	7,1%			1	3,0%								
Pneumopathie (hypoxémiante)			1	5,9%	2	6,1%							1	5,9%

Abréviations : ADEM : encéphalo-myélite aiguë disséminée ; BPCO : broncho-pneumopathie obstructive ; REM : rhombencéphalomyélite

Au total, **17 patients (soit 13,3% des infections à EV hors infections néonatales) sont décédés** au décours de tableaux pour lesquels l'imputabilité de l'infection à EV a été jugée comme probable (n=3), possible (n=13) ou peu probable (n=1) (Tableau 29).

- Mort subite ou inexplicée du nourrisson (MSIN) (n=10)
- Arrêt cardio-respiratoire (ACR) au décours de tableaux neurologiques (n=4)
- ACR au décours d'un choc cardiogénique ou d'un choc cardio-vasculaire (n=2)
- Détresse respiratoire aiguë réfractaire sur pneumothorax complet

Tableau 29. Présentation clinique des infections à EV associées à des décès

Hôpital	Mois	Age	Sexe	Présentation ou contexte clinique	Echantillons EV +	Type
Imputabilité probable						
CHU Reims	11	3 mois	M	ACR initialement récupéré mais sur décès sur choc cardio-vasculaire réfractaire	LCS, ATB	E-11
CHU Lille	6	41 ans	M	Choc cardiogénique sur myocardite chez patient traité pour lymphome par anti CD20	Sang, ATB	CV-B4
CHU Nantes	11	59 ans	M	Détresse respiratoire réfractaire sur pneumothorax complet chez patient avec pneumopathie interstitielle diffuse grave connue	ECNP, LBA	EV-D68 / B3
Imputabilité possible						
CHU Lyon	10	20 mois	M	MSN. Découverte cardiomyopathie dilatée à l'autopsie. Rôle considéré comme possible de l'infection à EV dans l'induction de troubles du rythme d'issue fatale	LCS, sang, ECNP, selles, liq.péricardique biopsie hép	E-11
CHU Caen	12	2 mois	M	MSN. Contexte rhinite fébrile avant décès. Co-infection VRS et ADV	LCS, selles	CV-A16
CH Jean Verdier	6	10 mois	F	MSN. Contexte fébrile avant décès	Ec rectal	CV-A4
CHU Dijon	5	8 mois	M	MSN. Contexte lavement baryté avant décès	Selles	E-3
CH Jean Verdier	5	6 mois	M	MSIN	Selles	CV-B5
CH Jean Verdier	9	3 mois	M	MSIN	Selles	E-9
CH Jean Verdier	11	5 mois	M	MSIN	Selles	E-21
CH Jean Verdier	6	11 mois	F	MSIN	ANP	CV-A4
CH Châlon-sur-Saône	10	9 mois	F	MSIN	ECNP	E-11
CHU Angers	11	1 mois	F	MSIN	Selles	CV-B2
CHU Tours	11	3 ans	F	ACR non récupéré. Contexte encéphalite nécrosante avec HTIC et engagement cérébral révélée par convulsions	Selles	E-11
CHU Grenoble	3	3 ans	M	ACR non récupéré. Contexte encéphalite avec atteinte tronc HTIC et engagement cérébral au décours exacerbation asthme. EV possible mais selles non prélevées	ANP	RV-C
CHU Caen	11	2 ans	F	ACR non récupéré au décours convulsions	Selles	E-11
Imputabilité peu probable						
CHU Rouen	3	4 ans	M	Contexte encéphalite nécrosante avec HTIC et engagement cérébral révélée par convulsions. Co-infection grippe B et ADV. EV possible mais selles non prélevées	ANP EV/RV +	Typage non réalisé

Point spécifique sur les atteintes neurologiques sévères

En 2022, une atteinte neurologique sévère hors infection néonatale a été rapportée chez 47 patients. Selon les mêmes critères que décrits ci-dessus, l'imputabilité de l'infection à EV a été retenue comme probable ou possible pour 20 (42,6%) et 24 (51,1%), soit 44/47 (93,6%). La proportion d'atteintes neurologiques sévères était de 3,6% (de 2,9 à 7 % entre 2016 et 2021).

Comme les années précédentes, elles ont majoritairement été rapportées chez des enfants (90,9%). La classe d'âge la plus touchée était les enfants de 1 à 4 ans qui ont représenté 61,4% (contre 81,6 % en 2021) (figure 22).

Le génome des EV a été détecté dans le LCS (n=18/44, 40,9%) et/ou le sang (6/44, 13,6%) et/ou un prélèvement nasopharyngé (23/44, 52,2%) et/ou les selles (16/44, 36,6 %). Le typage moléculaire réalisé pour 42/44 (95,5%) des dossiers patients a permis d'identifier un EV pour 35/44 (79,5%) des dossiers avec atteinte neurologique sévère. Pour 2 patients, un rhinovirus a été retrouvé à partir d'un échantillon respiratoire ou de selles ; une co-infection à EV (sans typage de l'EV) a été considérée comme probable du fait de la présentation clinique (rhombencéphalite ; état de mal associé à une myosite).

En 2022, les EV de l'espèce B étaient prédominants et principalement représentés par l'E-11 et le CV-B4. Parmi les EV de l'espèce A, le CVA2 était prédominant (figure 23).

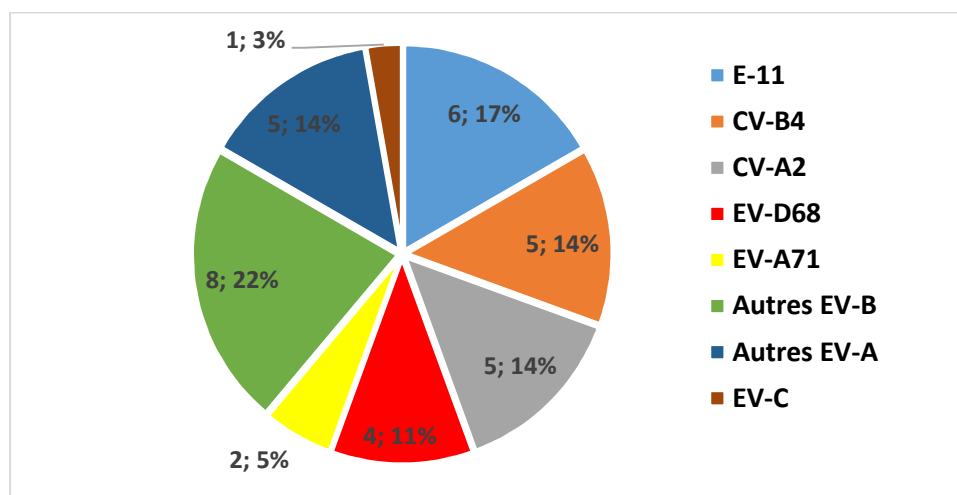


Figure 23. Types d'EV associés aux atteintes neurologiques sévères en 2022

Les atteintes neurologiques sévères ont été classées en 7 grands tableaux cliniques à partir des données cliniques disponibles et sans relecture systématique des dossiers par un clinicien spécialiste (figure 24). En 2022, les crises convulsives complexes/état de mal étaient le tableau clinique prédominant (61,4% contre 42,1% en 2021).

En 2022, ont notamment été rapportés :

- Tableaux convulsifs : n=27/44 patients (61,4%)
- Encéphalite : 6 patients âgés de 7 mois à 4 ans. Les tableaux d'encéphalite étaient associés à un E-11 (n=3, 30%) et à CV-B5 (n=1). Le typage était impossible (n=1) ou non fait (n=1) pour les autres cas. Un rhinovirus C a été retrouvé pour 1 patient.
- Paralysie – myélite – déficit moteur : 4 patients âgés de 2 mois à 65 ans. Pour 3 patients, un tableau respiratoire sévère était rapporté. Un EV-D68 était retrouvé pour 3 patients.
- Encéphalomyélite : 1 patient âgé de 2 mois infecté par un EV-A71, variant C1v2015.

Infections à EV-A71

L'EV-A71 est associé à des épidémies majeures de maladies pieds-mains-bouche au cours desquelles sont décrites des complications neurologiques potentiellement mortelles : paralysie flasque aiguë, rhombencéphalite avec ou sans complications cardio-pulmonaires. En 2016, plusieurs pays européens dont la France rapportaient une recrudescence d'atteintes neurologiques sévères en partie associées à l'EV-A71 et plus particulièrement à un nouveau variant du sous-génotype C1. Ce nouveau variant avait été détecté pour la première fois en 2015 en Allemagne (EV-A71 C1 variant 2015, C1v2015).

Le potentiel épidémique et la neurovirulence de l'EV-A71 justifient une surveillance particulière. En France, la surveillance des infections à EV-A71 repose sur :

- la détection et l'identification des EV chez les patients hospitalisés par les laboratoires du RSE
- la surveillance spécifique de la maladie PMB par un réseau national de pédiatres libéraux.

En 2022, 22 infections à EV-A71 ont été détectées dont 17 et 5 à travers les surveillances hospitalière et ambulatoire, respectivement. L'âge médian des patients était 1,7 an (8 jours – 40 ans) (figure 25). Les données cliniques étaient disponibles pour 20/22 patients : 14 patients (70%) ont été hospitalisés. Les cas ont surtout été rapportés à l'automne (15/22, 68% entre septembre et décembre).

Le génome des EV a été détecté dans le LCS chez 5 des 8 patients ayant présenté des manifestations neurologiques dont 2 avec atteintes sévères (encéphalite, n=2).

Cas particuliers des atteintes sévères à EV-A71 en 2022 (n=4)

- 4 patients (20%), âgés de 2 mois à 40 ans
- Atteintes neurologiques sévères, n=2
 - o Méningo-encéphalite chronique d'un patient adulte immunodéprimé sous rituximab (LCS/sang positif à plusieurs mois d'intervalle).
 - o Encéphalomyélite chez un enfant de 2 mois ayant présenté une hypotonie et une paralysie flasque du membre supérieur droit. L'IRM présentait des hyper signaux au niveau du tronc cérébral. A M1, la récupération était quasi-complète.
- Détresse respiratoire chez un nourrisson de 9 mois ayant présenté une exacerbation d'asthme sévère suivie d'insuffisance respiratoire aiguë ayant nécessité une prise en charge en réanimation
- Mort fœtale *in utero* chez une patiente ayant présenté une maladie PMB la semaine précédente. L'analyse histologique du placenta (positif pour la recherche d'EV) a mis en évidence des lésions inflammatoires avec de nombreux dépôts fibrinoïdes. Les biopsies réalisées chez le fœtus étaient négatives pour la recherche des EV.

Sous-génotypage EV-A71

- Sous-génotype connu pour 21/22 (95,5%) – Tous appartenaient au sous-génotype C1, variant 2015.

Depuis 2014, l'EV-D68 a émergé comme un virus significatif à l'origine d'infections respiratoires sévères et de tableaux neurologiques graves. Une entité clinico-radiologique proche de la poliomyélite a été caractérisée, associant déficit moteur et/ou paralysie d'un ou plusieurs membres (affectant plus fréquemment les membres supérieurs) et lésions de myélite à l'IRM (affectant principalement la substance grise centrale au niveau cervical et/ou thoracique). La myélite peut être associée à une atteinte des centres bulbaires et/ou des nerfs crâniens. Des tableaux de rhombencéphalite sans myélite ou de Guillain-Barré ont également été décrits au décours d'infections à EV-D68.

Le potentiel épidémique et la gravité des tableaux neurologiques justifient une surveillance spécifique de l'EV-D68 reposant ou non sur la notification des cas selon les pays.

En 2016, suite au signalement par la Catalogne et l'hôpital Necker d'une recrudescence d'atteintes neurologiques sévères en pédiatrie, une surveillance renforcée de l'EV-D68 et de l'EV-A71 et la notification des cas neurologiques sévères avait été mise en place conjointement par le CNR et Santé publique France. La notification des cas neurologiques sévères n'a pas été reconduite les années suivantes, en l'absence de signalement clinique majeur.

En revanche, comme en 2021, une surveillance renforcée de l'EV-D68 a été mise en place dès Septembre 2022 au niveau des CHU de Lyon et de Clermont-Ferrand après le signalement par les USA d'une reprise significative de la circulation du virus (screening en PCR EV-D68 de tous les échantillons respiratoires prélevés chez des enfants de moins de 10 ans au CHU de Lyon et recherche systématique de l'EV-D68 par typage pour tous les prélèvements respiratoires détectés positifs en EV/RV à Clermont). Une information a été faite aux membres du réseau pour rappeler l'importance de la recherche d'EV-D68 dans les tableaux neurologiques sévères de type myélites. La demande d'envoi de prélèvements respiratoires sélectionnés pour recherche d'EV-D68 (patients hospitalisés pour infection respiratoire sévère en réanimation ou soins continus et détectés positifs en EV/rhino) a connu une faible adhésion en post-COVID-19.

Au total, 139 cas d'infection à EV-D68 ont été détectés en 2022 (Figures 26-27). Au CHU de Lyon, la proportion de dossiers positifs en PCR EV-D68 chez les moins de 10 ans était de 4,8%. Au CHU de Nantes, la proportion de dossiers positifs en EV-D68 était de 0,3% tout âge confondu. Elle était de 0,2% au CHU de Clermont-Fd, tout âge confondu. Ceci semble indiquer que la circulation a été plus importante dans la population pédiatrique en 2022.

On rappelle que l'augmentation bisannuelle des cas, décrite entre 2012 et 2018, a été modifiée par la mise en place des mesures barrière anti-COVID-19. C'est la première fois qu'est observée une circulation accrue de l'EV-D68 deux années consécutives, cette observation pouvant être liée à la mise en place d'une surveillance renforcée en réponse aux alertes européenne (2021) ou américaine (2022). Le nombre de cas d'EV-D68 est d'une manière générale très largement sous-estimé dans le cadre de la surveillance hospitalière, étant donné que tous les échantillons détectés positifs en EV/rhinovirus ne peuvent pas être génotypés.

En 2022, 98% des EV-D68 (125/139) séquencés appartenaient au sous-clade B3. Ce sous-clade est majoritaire depuis 2016 en France et en Europe. Les 2 EV-D68 de sous-type D1 ont été identifiés chez des adultes (tableau 31).

Tableau 31. Distribution des clades d'EV-D68, 2016-2022

Année	Nb de cas	% de souches séquencées	Clades identifiés
2016	205	Non déterminé	B3 (100%)
2017	1	100,0%	B3 (100%)
2018	85	96,5%	B3 (49%) - D1 (51%)
2019	26	88,5%	B3 (57%) - D1 (43%)
2020	26	76,9%	B3 (80%) - D1 (20%)
2021	171	85,4%	B3 (100%)
2022	139	89,9%	B3 (98%) - D1 (2%)

Les signes cliniques des patients infectés par l'EV-D68 sont présentés dans le tableau 32.

Parmi les cas pédiatriques, 82 (83,7%) présentaient un tableau respiratoire isolé. Les tableaux d'asthme, de pneumopathie et de bronchiolite étaient prépondérants. **Huit patients (8,2%) ont présenté des tableaux neurologiques.** Parmi ces 8 patients, deux patients ont présenté des tableaux de myélites aiguës flasques affectant un des membres supérieurs sans atteinte des nerfs crâniens ni signes dysautonomiques. Les 2 enfants (traités par corticoïdes, immunoglobulines polyvalentes, et rituximab) présentent des séquelles à M2 et M12. Une co-infection EV-D68/ E-11 a été identifiée chez un enfant de 3 mois décédé d'un arrêt cardio-respiratoire sur choc cardio-vasculaire. **Au total, 21,4% (21/98) des enfants avec dossiers documentés ont été hospitalisés en réanimation/soins intensifs.**

Parmi les adultes, 9 (75%) présentaient un tableau respiratoire isolé. Parmi eux, 5 présentaient une détresse respiratoire sévère ayant justifié une hospitalisation en réanimation ou en soins intensifs. L'un d'entre eux est décédé au décours d'une détresse respiratoire grave sur pneumothorax complet dans un contexte de pneumopathie interstitielle diffuse grave avec fibrose avancée (sans autre étiologie identifiée). Une autre patiente en 7^e ligne de traitement pour un myélome a présenté un double tableau de myocardite et de tétraplégie flasque avec atteinte des muscles respiratoires d'issue fatale.

3.2.3. Surveillance spécifique de la poliomyélite

Depuis le milieu du siècle dernier, la vaccination antipoliomyélitique a considérablement réduit l'incidence de la poliomyélite. Initié en 1988, le programme d'éradication de l'OMS est dans sa phase finale avec l'espoir de voir la maladie éradiquée en 2030. Les poliovirus sauvages de type 2 et 3 (WPV2 et WPV3) ont été déclarés éradiqués en 2016 et 2019. Deux pays seulement restent endémiques pour le WPV1 (Pakistan et Afghanistan ; 30 cas de poliomyélite déclarés en 2022 contre 6 en 2021).

Cependant, l'objectif d'éradication est mis en danger par l'instabilité politique dans certains pays, les phénomènes migratoires, l'insuffisance de la surveillance et/ou de la couverture vaccinale dans certains pays, la proportion importante des infections à poliovirus a- ou pauci-symptomatiques et la diffusion actuelle des VDPV2 (poliovirus neurovirulents dérivés génétiquement de la souche vaccinale Sabin de type 2) (Figure 28). Toute l'Afrique intertropicale est considérée comme à risque d'importation et de diffusion des VDPV2 et concentre la grande majorité des cas de poliomyélite à VDPV2 dans le monde avec le Yémen (RDC : 54% ; Yémen : 24%). Toutefois, l'utilisation du nouveau vaccin nOPV2 (constitué de souches chimériques Sabin 2/ Sabin 3 hyper atténuées) en réponse aux épidémies (600 millions de doses administrées dans 28 pays depuis fin 2020) permet progressivement de diminuer le nombre de cas (676 cas en 2022 contre 1082 en 2020 et 682 en 2021) et de pays touchés (20 pays en 2022 contre 24 en 2020 et 22 en 2021). Néanmoins, bien que ce vaccin soit génétiquement plus stable que le vaccin oral Sabin, deux émergences de VDPV dérivés par double recombinaison du vaccin nOPV2 ont été détectées en 2022 en RDC et au Burundi (7 cas détectés).

L'année 2022 a été marquée par la détection d'un cas de poliomyélite à vDPV2 dans l'état de New York (avec détection rétrospective de VDPV2 similaires dans les eaux usées du comté de résidence du patient et de 3 comtés voisins) et la détection prolongée de vDPV2 dans les eaux usées de Londres. Ces 2 événements nous rappellent que la réintroduction de poliovirus est possible dans des pays ayant éradiqué le virus depuis longtemps. Toutefois, en Europe (à l'exception de la Roumanie, du Monténégro et de l'Ukraine), le risque de diffusion est considéré comme faible compte tenu du haut niveau global de la couverture vaccinale. L'épidémie à VDPV2, mise en évidence en Ukraine en Octobre 2021 (2 cas de poliomyélite ; 19 cas asymptomatiques), a pu être jugulée malgré le conflit avec la Russie.

En France, le dernier cas de poliomyélite autochtone remonte à 1989 et le dernier cas importé à 1995. Le laboratoire de Virologie du CHU de Lyon (LC en 2022, LA en 2023) est intégré au dispositif international de surveillance de la poliomyélite piloté par l'OMS. Une de ses missions est de surveiller l'introduction et l'éventuelle diffusion de poliovirus potentiellement neurovirulents sur le territoire métropolitain à partir de pays où une circulation active existe.

La surveillance humaine en France Métropolitaine s'appuie sur : 1/ le typage élargi des souches détectées dans le cadre de la surveillance globale des infections à EV (en particulier le typage des EV détectés dans les selles des enfants de moins de 15 ans et le typage des échantillons prélevés chez les patients avec tableau de paralysie flasque aiguë) ; 2) la recherche de poliovirus dans de rares tableaux de paralysie flasque aiguë avec éléments épidémiologiques pouvant faire suspecter une poliomyélite (1 à 3 par an) ou chez des enfants adoptés ou des réfugiés venant de pays à risque avéré ou potentiel pour la circulation de poliovirus ; 3) la détection de poliovirus en cas d'exposition accidentelle au poliovirus (personnels des laboratoires producteurs de vaccins polio essentiellement) (Figure 29).

Entre 1973 et fin 2018, une surveillance environnementale a été assurée par le Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris, s'appuyant sur l'analyse de prélèvements d'eaux usées et de boues

résiduaux réalisés mensuellement dans les 6 principales stations d'épuration du Bassin Parisien (bassin de population de 12 millions d'habitants). En Octobre 2019, une commission du HCSP a estimé qu'il n'était pas opportun de maintenir cette surveillance environnementale du fait des contraintes techniques lourdes, du rendement faible et d'une balance coût/bénéfice défavorable. Néanmoins, suite à la détection de vDPV2 aux USA et au Royaume-Uni, il a été décidé de remettre en place une surveillance environnementale de la polio. Un projet est à l'étude porté par l'ANRS MIE avec pour objectifs :

- D'identifier une méthode standardisée de détection des PV dans les eaux usées (en s'affranchissant si possible de la culture sur L20B et RD)
- De définir une stratégie d'échantillonnage à l'échelle nationale
- De définir une stratégie de surveillance renforcée en cas de détection de poliovirus

A la phase opérationnelle, la surveillance environnementale des poliovirus ferait appel aux réseaux de collecte déjà établis (Obépine, Sum'Eau, Eaux de Paris, ...)

En 2022, aucun poliovirus n'a été détecté via la surveillance humaine (Tableaux 33).

Tableau 33. Surveillance humaine de la poliomyélite, 2018-2022

	2018	2019	2020	2021	2022
Nb LCS testés en PCREV	22282	22656	19385	22221	23960
Nb LCS positifs en PCREV	2126	1538	177	411	1000
Nb de dossiers patients avec EV identifié dans le LCS	1415	969	87	200	634
Nb selles testées en PCREV	7119	7368	5683	6619	7226
Nb selles positives en PCREV	482	553	112	207	408
Nb de dossiers patients avec EV identifié dans les selles	281	332	45	125	304
Nb de dossiers patients avec poliovirus identifié	0	0	1 ^a	0	0
Recherche de poliovirus chez des enfants adoptés ou réfugiés					
Nb total patients analysés	74	1	1	3	3
Nb patients détectés EV+	9	1	0	0	0
Nb patients EV+ typés	7	1	0	0	0
Nb patients PV+	0	0	0	0	0
Recherche de poliovirus chez des personnels exposés accidentellement au poliovirus					
Type de virus	WPV1^b/OPV3^c	WPV3	OPV2	WPV3/WPV1	RAS^e
Niveau d'exposition	Faible/ intermédiaire ^d	faible	intermédiaire	Faible/ intermédiaire ^d	
Nb personnels testés	2 /6	1	1	2/2	
Nb échantillons testés	6/17	3	6	2/25	
Nb personnels PV+	0/1	0	0	0/0	
Nb échantillons PV+ (PCR et/ou culture)	0/3	0	0	0/0	

^a Identification de poliovirus 1 vaccinal dans un échantillon nasopharyngé; ^b : WPV : wild-type poliovirus ; ^c : OPV: oral poliovirus vaccine ; ^d : survenue de 2 incidents en 2018 et 2021 ; ^e Aucun incident d'exposition en 2022

3.2.4. Surveillance des infections à parechovirus en France métropolitaine

Diagnostic

En 2022, 24 laboratoires du RSE ont réalisé le diagnostic des infections à PeV (stable depuis 2021) (Tableau 34).

La généralisation de l'utilisation des techniques multiplex utilisées pour le diagnostic différentiel des méningites permet de rendre une réponse diagnostique rapide compatible avec la prise en charge des cas pédiatriques. Elle a pour corollaire l'élargissement du screening des infections à PeV à d'autres tranches d'âge, même si de nombreuses études ont montré que le diagnostic était essentiellement indiqué chez les nouveau-nés et nourrissons de moins de 3 mois. 23 laboratoires ont également transmis des échantillons pour le diagnostic des infections à PeV aux laboratoires du CNR.

En 2022, d'après les données transmises, 19257 échantillons ont été analysés ; **127 infections à PeV ont été diagnostiquées.**

Données de la surveillance

En 2022, 117 infections à PeV ont été rapportées (117/127, 92,1%) dans le cadre de la surveillance hospitalière par les laboratoires du RSE, contre 60 en 2021. La répartition mensuelle des cas est présentée en figure 30 et met en évidence de pics de circulation en été et en automne comme ce qui était habituellement observée avant 2020.

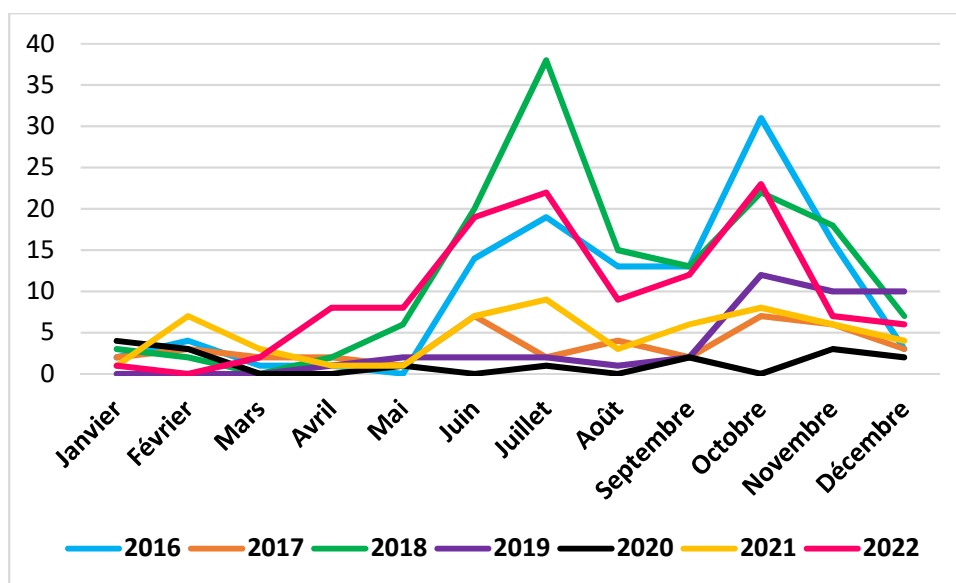


Figure 30. Distribution mensuelle des infections à parechovirus, 2016-2022

Les infections ont été diagnostiquées majoritairement chez les enfants de moins de 3 mois (103/117, 88 %) dont 64 (54,7%) nouveau-nés. Au total, 74,4 % des infections à PeV ont été diagnostiquées à partir du LCS, la majorité des trousse étant validées sur cette matrice. La recherche des PeV dans des échantillons de sang, selles ou respiratoires a permis le diagnostic de l'infection pour 16 enfants supplémentaires.

Les signes cliniques étaient disponibles pour 73,5 % (86/117) des dossiers. Les tableaux fébriles du nourrisson étaient les plus fréquents associés ou non à des signes neurologiques dominés par une irritabilité. Les enfants dont l'infection avait été diagnostiquée à partir d'un prélèvement périphérique

présentaient plus de signes digestifs ou respiratoires et moins de signes neurologiques que les enfants dont l'infection avait été diagnostiquée à partir du LCS ou du sang (tableau 35).

Cas particuliers des atteintes sévères à PeV en 2022 (n=9, 7,6%)

Une infection sévère a été rapportée pour 9 enfants :

- **Mort subite du nourrisson, n=3.** Les enfants étaient âgés de 3 à 6 mois. Pour un enfant, le diagnostic a été fait à partir du LCS et d'une aspiration nasopharyngée dans un contexte de coma fébrile (état de mort encéphalique à l'admission) et d'une méningite à pneumocoque. Pour les deux autres enfants (détection dans les selles), l'imputabilité de l'infection à PeV est plus difficile à établir du fait de l'excrétion prolongée du génome des PeV dans les selles et au niveau de la gorge, de manière générale.

- **Tableau de sepsis sévère, n=2** dont 1 non attribué à l'infection à PeV (diagnostic non retenu)

- Les infections sévères avec identification du type (8/9) étaient associées aux PeV-3 (n=3), -4 (n=2), -5 (n=2) et -1 (n=1).

De plus, un enfant de 7 ans a présenté une suspicion de polyradiculonévrite aiguë sur douleurs musculaires intenses avec impossibilité de marcher dans un contexte de rhinite le mois précédent. L'atteinte neurologique n'a pas été retenue mais plutôt un diagnostic de myosite. Un parechovirus (non typé) a été retrouvé dans les selles, ce qui rend l'infection à PeV difficile à imputer.

Typage moléculaire

Le typage moléculaire a été réalisé pour **72/117 (61,5%)** des dossiers patients déclarés (contre 62,1% en 2019-2020) et a permis l'identification du PeV pour 66/72 (92%) des dossiers analysés. Le PeV-3 était prédominant, suivi de PeV-4 (Figure 31).

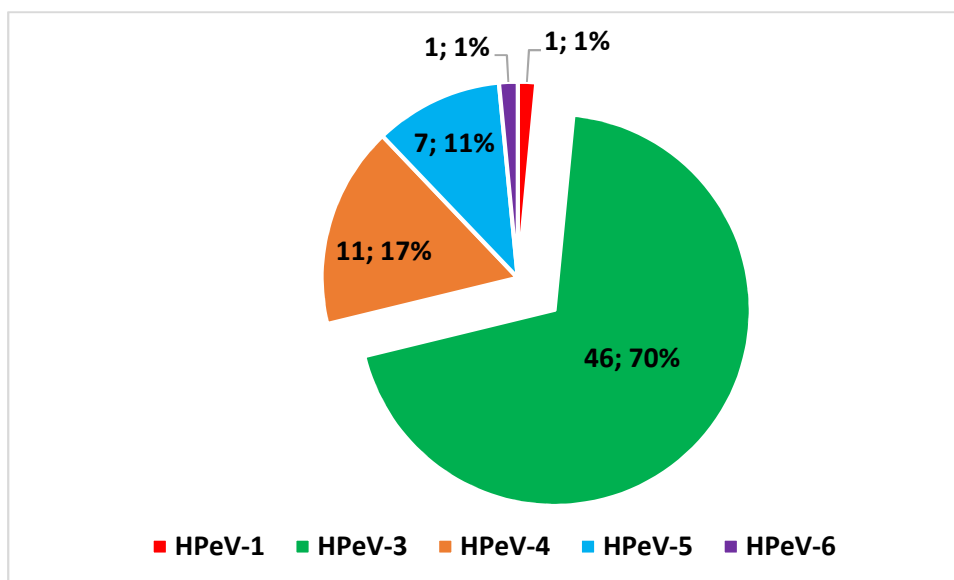


Figure 31. Distribution des génotypes de PEV en 2022

3.2.5. Surveillance des infections à EV, rhinovirus et parechovirus dans les DROM

En 2022, les laboratoires de microbiologie/biologie de certains territoires ultra-marins ont contribué à la surveillance en transmettant des échantillons pour typage (Réunion, Polynésie et Nouvelle Calédonie). Les données épidémiologiques globales (nombre et type d'échantillons testés pour la recherche d'EV, âge des patients au diagnostic) ne sont actuellement pas encore recueillies.

La Réunion

Vingt-quatre LCS collectés entre Janvier et Décembre 2022 et détectés positifs en PCR EV aux CHU de St Denis et St Pierre ont été reçus pour typage. La médiane d'âge des patients était de 5 ans (8 jours ; 69 ans). Au total, 19/24 (80,8%) des échantillons ont pu être typés. L'E-9 était majoritaire (N=9), les autres types d'EV (E-6, E-4, CV-A5, EV-71, E-11, CV-A9, E-25) étant détectés dans 1 à 3 LCS seulement.

Deux infections à E-11 ont été détectées chez une enfant de 9 jours atteinte d'une infection néonatale (pour laquelle le profil clinique ne nous a pas été communiqué) et un enfant de 3 ans sans facteurs de risques atteint d'une encéphalite avec séquelles graves (troubles de la déglutition et perte de contact). Les séquences des souches réunionnaises présentaient plus de 99% d'homologie avec les séquences du nouveau variant caractérisé par le CNR chez les patients atteints d'infections néonatales graves avec défaillance hépatique.

Nouvelle Calédonie

Soixante-sept échantillons cliniques (dont 4 LCS et 63 échantillons respiratoires) collectés entre le 26/04 et le 16/12/2022 ont été reçus pour typage. L'envoi des échantillons respiratoires avait pour objectif principal d'évaluer la trousse QIAstat-Dx® Respiratory SARS-CoV-2 panel (Qiagen) mais a permis d'identifier 48 souches de rhinovirus et 12 souches d'EV (cf détail au chapitre 2.2.3). Au total, 54/67 (80,6%) échantillons et 52/65 (80%) dossiers ont pu être typés. Six infections à E-11 ont été identifiées chez des enfants âgés de 10 jours à 4 mois. Toutes les séquences étaient apparentées au nouveau variant majoritaire d'E-11 détecté en Métropole et à la Réunion.

Polynésie

Onze échantillons de 7 dossiers collectés entre le 08/09 et le 23/10/2022 ont été reçus pour typage. Au total, 9/11 échantillons et 7/7 dossiers ont pu être typés. L'E-25 était majoritaire, identifiés chez 5 patients dont un avec un tableau de sepsis et un avec tableau de mort inexplicée du nourrisson et détection de l'EV dans le LCS et une aspiration nasopharyngée.

3.3. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux et internationaux

3.3.1. Surveillance nationale

Santé publique France

Des échanges de données annuels ou pluriannuels sont réalisés entre Santé publique France et le CNR EV-PeV pour la réalisation de bulletins de rétro-information aux laboratoires du RSE et sur le site de Santé publique France. Ces bulletins ont pour but de : 1/ faire le bilan des données clinico-épidémiologiques et virologiques pour une période ou l'année en cours, 2/ sensibiliser aux infections sévères et proposer des schémas diagnostiques, 3/ faire le point sur des sujets spécifiques choisis liés aux entérovirus et 4/ diffuser des informations nationales/internationales utiles à la surveillance des infections à EV.

Des alertes spécifiques sur la recrudescence d'infections sévères ou de tableaux cliniques particuliers font également l'objet d'échanges entre le CNR EV-PeV et Laura Zanetti, nouvelle correspondante pour Santé publique France depuis septembre 2022.

Réseau de surveillance des eaux usées

Depuis 2020, l'équipe EPIE (Jean-Luc Bailly) de l'UMR CNRS 6023 - LMGE fait partie du réseau Obépine (Observatoire épidémiologique dans les eaux usées) et a mis en place la surveillance du coronavirus SARS-CoV-2 dans huit stations d'épuration du Puy-de-Dôme. Les résultats ont été communiqués de façon hebdomadaire à différents canaux : le réseau Obépine, l'ARS Auvergne-Rhône-Alpes, les autorités des communautés de communes et les gestionnaires des stations. Au cours de la période épidémique, le laboratoire a aussi été sollicité pour la surveillance des eaux usées traitées, utilisées pour l'irrigation des cultures céréalières dans la plaine de la Limagne. Profitant de l'échantillonnage réalisé, le laboratoire a mis en place la surveillance des entérovirus depuis 2021. Une communication a été réalisée dans le cadre du Symposium ENPEN le 20/01/23 « Implementation of routine SARS-CoV-2 and enterovirus surveillance in wastewater ».

3.3.2. Surveillance internationale

ECDC

Les échanges avec l'ECDC se font par l'intermédiaire de Santé publique France suite à des alertes spécifiques (Early Warning and Response System), comme ce fut le cas début 2023 pour la recrudescence des infections néonatales sévères.

ENPEN

Depuis 2017, le CNR EV-PeV fait partie du réseau européen de surveillance des infections à EV non poliomyélitiques, ENPEN. Ce réseau a pour objectifs de :

- 1/ homogénéiser le diagnostic et le génotypage des infections à EV *via* l'élaboration de recommandations (J Clin Virol 2018; 101:11-17),
- 2/ proposer des protocoles standardisés de surveillance des infections à EV associées aux atteintes neuro-méningées dont les myélites flasques aiguës ou respiratoires,
- 3/ informer rapidement les membres du réseau de la circulation des types d'EV à haut potentiel pathogène (EV-A71 ou EV-D68) ou de la recrudescence de tableaux cliniques sévères ou inhabituels,

4/ proposer des études collaboratives clinico-virologiques (échanges de données agrégées) ou phylogénétiques (transfert de souches pour séquençage NGS pour des laboratoires qui ne le réalisent pas et/ou analyse des séquences)

Groupe de travail sur les myélites flasques aiguës

Un groupe de travail sur les myélites flasques aiguës (MFA) a été créé en Amérique du Nord en septembre 2018 en réponse à l'émergence de la MFA comme une maladie invalidante représentant une menace importante pour la santé publique et en lien avec les épidémies bisannuelles d'EV-D68 au cours desquelles une augmentation des MFA est observée. Avec un total de 131 membres, ce groupe multi-disciplinaire inclut des cliniciens (de neurologie, pédiatrie, maladies infectieuses, médecine des soins intensifs, chirurgie et médecine physique et de réadaptation) et des scientifiques ayant une expertise en épidémiologie, en génétique, en virologie et en immunologie, et des représentants des patients. Dans le contexte d'une réflexion sur la mise en place d'une surveillance spécifique des MFA en France menée en concertation avec le Dr Aubart (neuropédiatre à l'Hôpital Necker), Isabelle Schuffenecker et Audrey Mirand participent régulièrement aux réunions mensuelles du groupe.

Un des membres, Jelte Hefferich, neuropédiatre aux Pays-Bas, a sollicité le réseau ENPEN pour mettre en place une surveillance spécifique des myélites en Europe.

OMS

Le laboratoire de Virologie de Lyon, en tant que Centre Collaborateur Polio de l'OMS, transmet depuis Novembre 2019 des données agrégées et anonymisées de la surveillance des infections à EV (type et date échantillons testés, résultats typage, origine géographique des échantillons) sur un mode hebdomadaire au bureau Européen de l'OMS.

3.4. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

3.4.1. Suivi de l'immunité anti-polio chez les salariés exposés aux poliovirus

Dans le cadre de l'éradication de la poliomyélite, un plan d'action mondial (GAPIII) a été élaboré par l'OMS, visant à réduire au maximum le risque d'exposition aux poliovirus neuro-virulents associés aux établissements détenant ou produisant des quantités importantes de virus (laboratoires producteurs de vaccins, laboratoires de recherche). Pour les personnels risquant d'être exposés dans ces établissements, il est recommandé de vérifier que les titres en anticorps anti-poliovirus sont protecteurs. Depuis Janvier 2019, le LA du CNREV assure le suivi de l'immunité post-vaccinale des salariés du groupe SANOFI impliqués dans la production de vaccins polio (sites de Marcy l'Etoile et de Val de Reuil, France). Depuis Octobre 2022, il assure également le suivi d'une partie des personnels du site de production de vaccin polio IPV du groupe GSK (site de Rickensart, Belgique). Enfin, il contrôle les sérologies des personnels techniques et d'entretien en lien avec l'activité polio du site lyonnais du CNR EV.

Tableau 36. Bilan des sérologies polio réalisées de 2019 à 2022 dans le cadre du plan GAPIII

	SANOFI	GSK	Institut Pasteur	CNR EV
2019	776		5	18
2020	739	55	1	1
2021	848		0	4
2022	729	48	0	18

3.4.2. Suivi de l'immunité anti-poliovirus au CHU de Lyon

Comme les années précédentes, des sérologies poliovirus ont été réalisées principalement chez des patients hospitalisés en pédiatrie générale et également chez quelques adultes vus en Médecine du Travail. L'immunité anti-poliovirus a également été investiguée chez des patients hospitalisés à l'Institut d'Hématologie et Oncologie Pédiatrique, dans le cadre de bilans de déficits immunitaires ou pour le suivi de la reprise d'immunité après greffe de moelle osseuse. Au total, **270** sérologies ont été réalisées en 2022.

Sur **186** patients pédiatriques (âge médian : 8,8 ans) non hospitalisés en hématologie, **39** patients présentaient un taux d'anticorps inférieur ou égal au seuil protecteur vis-à-vis des poliovirus 1 et 3. Pour ces enfants, le rappel est fortement conseillé.

3.4.3. Suivi de l'immunité anti-poliovirus hors CHU de Lyon

Dix-sept sérologies ont été réalisées pour d'autres CHU (Chambéry:8 ; Saint-Etienne : 1 ; Valence:8) dans des contextes cliniques similaires à ceux précisés en 3.2.3.

4 – ALERTES

4.1. Infections néonatales sévères à E-11

Entre Juillet 2022 et Mars 2023, 9 cas graves d'infection ont été diagnostiqués chez des nouveau-nés en association avec un E-11 identifié par le CNR comme étant un nouveau variant recombinant. Tous les patients ont présenté un tableau de sepsis sévère entre 3 et 6 jours de vie, rapidement compliqué par une insuffisance hépatocellulaire. Sept nouveau-nés sont décédés de défaillance multi-viscérale entre J6 et J40. Tous les enfants atteints étaient de sexe masculin. Il s'agissait de 4 paires de jumeaux (nés entre 31 SA+5 et 35 SA+2 jours) et d'un nouveau-né né à terme. Quatre des mères ont présenté des signes infectieux à la période de l'accouchement. La preuve de l'infection maternelle a pu être apportée chez ces 4 mères par l'analyse d'échantillons sanguins prélevés entre J-3 et le jour de l'accouchement, sans qu'on puisse préciser complètement le mode de transmission mère-enfant (voie sanguine, sécrétions vaginales).

Les analyses virologiques ont montré que :

- 1/ Tous les cas graves avec défaillance hépatique étaient causés par le même variant recombinant de l'E-11, détecté en France Métropolitaine depuis Avril 2022 ;
- 2/ Ce nouveau variant était détecté chez 5 nouveau-nés avec syndrome brady-apnéique sévère requérant une oxygénothérapie haut-débit ;
- 3/ Ce variant était la souche majoritairement détectée dans les infections néonatales non sévères et les infections non-néonatales sévères et non sévères.

Les analyses épidémiologiques ont montré que :

- 1/ l'E-11 était le type prédominant chez les nouveau-nés au cours de la période étudiée (31,1% des types d'EV identifiés) ;
- 2/ la mortalité observée sur la période était supérieure (1,7%) à celle observée sur la période 2016-2021 (0,4%)

Les facteurs de risque connus de développement d'infections néonatales graves sont : 1/ un âge au diagnostic <8 jours ; 2/ la prématurité (si elle est associée à un petit poids de naissance). Par ailleurs, des études de génétique sont en cours pour tenter de mettre en évidence un ou plusieurs facteurs de susceptibilité qui pourraient expliquer la gravité des tableaux cliniques.

Début Juin 2023 ont été rapportés 2 autres cas d'infection à E-11 chez des jumeaux non monozygotes en Italie dont l'un a évolué favorablement et l'autre est en attente de transplantation hépatique. Les séquences d'E-11 des cas italiens présentent 99% d'homologie avec les séquences d'E-11 des cas français. Aucun autre cas sévère n'a été rapporté en Europe.

Séquence des alertes nationales et internationales :

- 20/01/2023 : signalement par le CHU Necker de 5 cas graves d'infection à EV pris en charge à Port Royal et Necker entre fin Octobre 2022 et mi-Janvier 2023 (dont 4 infections à E-11)
- 27/01/2023 : relais aux laboratoires partenaires du RSE pour diffusion de l'information aux pédiatres réanimateurs et au néonatalogistes de leurs CH/CHU avec demande de mise à jour des informations viro-cliniques sur le site web et d'envoi au CNR EV-PeV de tous les échantillons positifs en EV pour typage
- 03/02/2023 : relais à Santé publique France avec bilan épidémiologique initial

- 28/04/2023 : information des sociétés françaises de pédiatrie (néonatalogie, urgences, réanimation, hépato-gastroentérologie, infectiologie), de la société française de gynécologie, de la SFM, du Collège des enseignants de médecine Bactériologie-Virologie-Hygiène (CHU), du collège de Bactériologie, Virologie, Hygiène des hôpitaux (CH), du réseau de pédiatrie ambulatoire PARI et du RSE insistant sur la nécessité de :
 - o Penser au diagnostic d'infection à EV devant tout tableau néonatal de sepsis sévère, de choc cardio-vasculaire, de myocardite et d'insuffisance hépatocellulaire, en particulier en cas de signes infectieux chez la mère en pré ou per-partum
 - o Prévoir les prélèvements ad-hoc (LCS, sang, nasopharyngé, selles) pour recherche d'EV et envoyer rapidement les prélèvements positifs pour typage au CNR
- 03/05/2023 : EWRS
- 05/05/2023 : Communicable Disease Threat Report
- 26/05/2023 : Alerte sur le site de l'OMS (Event Information Site)

Les rôles du CNR ont été multiples au cours de cet évènement :

- Investigations virologiques et bilans épidémiologiques
- Production et partage de séquences avec la communauté internationale
- Participation au groupe de travail sur les Infections Néonatales Sévères (n=3)
- Participation à des réunions de travail avec SPF et la DGS (=3)
- Participation à une réunion avec l'ECDC et l'OMS (n=1)
- Participation à la rédaction et relecture de documents de synthèse à destination des pouvoirs publics nationaux et internationaux (n=3)
- Participation à la rédaction d'un article publié le 01/06 dans Eurosurveillance

4.2. Mort foetale *in utero* associée à des infections à EV

En 2022, 2 cas d'infections à EV associées à une mort foetale *in utero* (MFIU) ont été rapportés à 35 et 27 semaines d'aménorrhée, en mars et en décembre 2022. Dans les deux cas, le placenta était positif pour la recherche des entérovirus sans atteinte foetale (absence de détection du génome des entérovirus dans les biopsies). Pour l'une des patientes, un syndrome pseudo-grippal associé à une éruption de type PMB une semaine auparavant était rapporté et une virémie était détectée à partir d'un sérum prélevé le jour de la constatation de la MFIU. L'analyse histologique du placenta a mis en évidence des lésions de type intervillite subaiguë avec dépôts fibrinoïdes péri-villositaires et nécrose trophoblastique.

5 - ACTIVITES DE MISE A DISPOSITION DE L'INFORMATION, DE FORMATION ET DE CONSEIL

5.1. Conseils et expertise aux professionnels de santé

Mails / Téléphone

Les deux laboratoires du CNR EV-PeV sont sollicités par téléphone ou e-mail pour des activités de conseil ou d'expertise. Les demandes d'information spécifiques aux poliovirus ou à des suspicions de poliomyélite ou syndrome post-polio sont traitées spécifiquement par le laboratoire de Virologie de Lyon. Les demandes de conseil ou d'expertise portent principalement sur :

- Information sur le type de prélèvements à réaliser et les techniques recommandées pour le diagnostic et le typage moléculaire des infections à EV (médecins ou biologistes de CHU, CHR ou laboratoires privés ; médecins inspecteurs de DDASS)
- Evaluation des trousse diagnostiques
- Information sur les modalités d'envoi d'échantillons pour expertise
- Aide à l'interprétation des résultats de diagnostic et de typage dans les infections à EV et PEV
- Conseils pour la mise en place du diagnostic des parechovirus (algorithme diagnostique, prélèvements à analyser et techniques recommandées, transmission d'échantillons contrôle positifs).
- Information sur les conditions d'intégration au RSE et transmission des documents afférents (fiches pour la transmission mensuelle des données de surveillance)
- Analyse d'observations cliniques et conseils sur les observations d'infections sévères
- Conseils aux cliniciens sur les modalités diagnostiques de tableaux cliniques sévères, sur le risque de transmission materno-fœtale.

Bulletins d'information aux laboratoires du RSE

En 2022, deux bulletins d'information ont été adressés directement aux membres du RSE et/ou *via* le site de Santé publique France intégrant un point d'information sur la circulation de VDPV2 Londonienne et sur les infections à EV-D68 diagnostiquées en 2021

Site web du CNR EV-PeV (<http://cnr.chu-clermontferrand.fr>)

A travers les différents onglets accessibles à tout public sans identification préalable, le site web du CNR EV-PeV permet :

- la communication d'alertes
- la diffusion des données épidémiologiques nationales de surveillance : les deux bulletins d'information annuels sont disponibles ainsi que le rapport d'activités annuel du CNR
- la diffusion des méthodes de génotypage des EV et PeV
- la diffusion des bulletins des derniers points épidémiologiques émis par l'OMS sur la circulation des poliovirus.

Sur la page d'accueil sont également visibles un compteur et un graphique indiquant le nombre de méningites diagnostiquées par l'ensemble des laboratoires du RSE du 1^{er} janvier de l'année en cours à la date du jour. En cliquant sur les villes indiquées sur la carte, il est également possible de connaître le nombre de méningites à EV diagnostiquées dans chaque laboratoire participant à la surveillance.

Bulletins épidémiologiques adressés aux cliniciens

Depuis 2011, un bulletin hebdomadaire donnant la distribution des virus détectés par PCR dans les prélèvements respiratoires (notamment rhinovirus) est adressé aux cliniciens des HCL concernés par la prise en charge des patients (Dr Casalegno). Ponctuellement, des informations relatives à la circulation des EV-D68 sont communiquées.

Bulletins épidémiologiques adressés à l'ARS

Depuis 2013, le laboratoire associé transmet à l'ARS Auvergne un relevé épidémiologique hebdomadaire des maladies à potentiel épidémique dont les méningites à EV.

5.2. Conseils et expertise aux autorités sanitaires

Surveillance polio

- Participation à la rédaction du point d'actualités sur la détection de VDPV2 à Londres et aux USA publié sur le site de Santé Publique France (28/09/2022)
- Transmission des données actualisées de la surveillance humaine de la poliomyélite dans le cadre de la détection de VDPV2 à Londres et aux USA (19/09/2022)
- Participation à la rédaction du rapport d'activités annuel polio (synthèse des données de la surveillance humaine) transmis par la DGS à l'OMS (pour l'année 2021) (Mai 2022). Une nouvelle commission de certification de l'éradication de la poliomyélite a été mise en place par la DGS (réunion plénière du 15 Juin 2023) pour juger de la pertinence des activités liées à la surveillance, à la vaccination et au confinement des virus polio. Cette commission aura la responsabilité de valider de manière indépendante ce rapport d'activités et de fixer les objectifs de travail annuels en réponse aux exigences de l'OMS
- Rédaction du rapport d'activités annuel du CCOMS Polio de Lyon pour l'OMS (pour l'année 2021) (Juin 2022). Ce rapport sert de base à l'accréditation annuelle du CCOMS Polio pour ses activités de surveillance.

Alerte sur les infections néonatales

Le rôle du CNR EV-PeV dans l'alerte sur les infections néonatales sévères à E-11 en 2022-2023 a été détaillé dans le chapitre 4 ci-dessus.

6 – Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR en 2022

6.1. Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.1.1 Laboratoire coordonnateur

Aucun travail de recherche n'a été conduit ou poursuivi en 2022.

6.1.2. Laboratoire associé

[Enterovirus meningitis in Mayotte French Comoros Island, March-June 2019](#)

En dehors d'une épidémie de large ampleur de conjonctivites hémorragiques associées à un EV, aucune donnée n'est disponible sur l'épidémiologie des méningites à EV à Mayotte, le diagnostic de ces infections n'étant pas réalisé en pratique courante. De plus, la proximité de cette île avec celle de Madagascar où sévissent des épidémies à poliovirus dérivés des souches vaccinales justifie une surveillance plus étroite de la circulation des entérovirus.

L'étude réalisée a porté sur une période courte, de Mars à Juin 2019 (**Fourgeaud J, J Clin Virol. 2022 Jun;150-151:105154. doi: 10.1016/j.jcv.2022.105154**).

Apport du CNR : Génométypage des échantillons cliniques (EV et PeV) et participation à la rédaction de l'article

Résumé

Background: Enteroviruses (EV) are the most frequent cause of acute meningitis worldwide, and regularly responsible for outbreaks. Human parechoviruses (PeV) are associated with sepsis and meningitis in young infants. In Mayotte, a French department located in the Comoros archipelago, EVs and PeVs are not part of the routine screening of cerebrospinal fluids (CSFs) of patients with meningitis. Consequently, no data is available on EV or PeV epidemiology.

Aim: Assess the need for EV and PeV diagnosis in Mayotte.

Methods: CSFs collected between March and June 2019 from patients addressed to Mayotte Hospital were retrospectively screened for EV and PeV by PCR. If positive for EV, genotyping was attempted.

Results: EV and PeV RT-PCR were performed on 122/263 (46%) CSFs (45 adults, 77 children). EV meningitis was diagnosed in 16/77 children (21%) with a median age of 32 days (8–62). One 30-days-aged infant presented with a PeV infection. Fever was reported in 94% cases (16/17), followed by gastrointestinal disorders in 29% cases (5/17). EV genotyping achieved identification for 10/16 (63%) EV-positive samples. Four different EV types were identified: Echovirus 16 (E-16, n=6), EV-B100 (n=2), and E-14 and E-18 (n=1, each).

Conclusion: EV/PeV prevalence of 14% highlights the importance of implementing this diagnosis which can impact duration of hospitalization and administration of antibiotics thus reducing risk of antimicrobial resistance. Surveillance of circulating EV types is needed to understand the range of enteroviruses detected in meningitis cases in places that have been underrepresented in enterovirus surveillance studies.

[Infection à EV chez les patients sous rituximab](#)

Fin 2022, les internistes de l'hôpital Cochin nous ont contactés à propos d'un cas d'encéphalite chronique à EV-A71 chez un patient sous rituximab pour une maladie inflammatoire chronique. Une

étude rétrospective sur des cas similaires a été proposée aux laboratoires du RSE et leurs cliniciens correspondants.

Objectifs : Décrire les infections à EV chez les patients traités par rituximab pour une maladie auto-immune avec 3 objectifs principaux :

1. Décrire les manifestations cliniques, biologiques et radiologiques devant faire évoquer une infection à EV
2. Décrire l'évolution sous traitement
3. Étudier le taux de réplication asymptomatique chez des patients traités par rituximab à partir de l'analyse d'une sérothèque afin de rechercher un défaut de contrôle spécifique de l'EV induit par le rituximab.

Apport du CNR :

- Recherche des cas similaires dans la base de données du CNR et mise en contact des investigateurs avec les correspondants du RSE
- Courant 2023 : des sérums des patients inclus ont été collectés afin de réaliser des études de séroneutralisation.

Etat d'avancement :

- Analyse de séroneutralisation réalisée pour le patient infecté par un EV-A71.
- Rédaction du manuscrit en cours
- Résumé soumis au 86^{ème} congrès de la Société Française de Médecine Interne.

[Etude de la recombinaison génétique des EV-A71 et autres EV de l'espèce A](#)

Objectifs : Décrire l'évolution moléculaire des EV de l'espèce A et en particulier celle de l'EV-A71

Apport du CNR : Séquençage NGS du génome complet dans les échantillons cliniques collectés au cours de la surveillance hospitalière et ambulatoire

Etat d'avancement : Stage de Master 1 (8 semaines, soutenance août 2022) ; Stage de Master 2 (6 mois), analyse partielle réalisée par un étudiant en Master 2 (soutenu en juin 2023).

Résumé (travaux effectués pendant le stage de M2) : Les entérovirus se présentent sous la forme de plusieurs types dont la co-circulation facilite les co-infections. Ces dernières favorisent à leur tour les échanges génomiques inter-typiques par recombinaison génétique et l'émergence de formes recombinantes. Le rôle de la recombinaison génétique dans l'évolution de l'entérovirus A71 (EV-A71) a été étudié en comparant les génomes viraux à ceux d'autres types qui ont circulé en France durant la période 2016 à 2022. Parmi les 345 échantillons cliniques analysés, 213 génomes ont été générés par séquençage NGS, permettant de constituer un jeu de données global de 384 génomes en incluant 171 génomes obtenus antérieurement dans le laboratoire. Les profils de recombinaison ont été établis par l'analyse des phylogénies établies pour deux régions génomiques distantes P1 et 3D et de la similitude entre les génomes. Les discordances entre les phylogénies déterminées pour les deux régions génomiques ont suggéré l'existence de 8 formes recombinantes d'EV-A71, apparues entre 2010 et 2014. Les profils de similitude ont révélé de multiples événements de recombinaison dans les génomes d'EV-A71. Six formes recombinantes ont été rapportées dans des cas sporadiques, deux ont été épidémiques en Europe. L'analyse des génomes viraux complets améliore la surveillance épidémiologique des clades épidémiques d'EV-A71.

Une étude d'épidémiologie moléculaire de l'EV-A71 est également en cours au sein du réseau ENPEN et dont Jean-Luc Bailly est le coordonnateur.

Surveillance environnementale dans les eaux usées

Depuis 2020, l'équipe EPIE (Jean-Luc Bailly) de l'UMR CNRS 6023 - LMGE associée au CNR EV-PeV fait partie du réseau Obépine (Observatoire épidémiologique dans les eaux usées). Depuis 2021, la surveillance des EV est réalisée dans les échantillons collectés initialement pour la surveillance du SARS-CoV-2. Dans ce contexte, plusieurs travaux destinés à l'amélioration et la standardisation de la détection et du génotypage des EV dans les eaux usées ont été réalisés.

Objectif 1 : Développement d'une approche semi-ciblée de séquençage NGS pour déterminer la diversité des entérovirus présents dans les eaux usées : technique de capture par sondes « Illumina RNA Prep with Enrichment Tagmentation ».

Apport du CNR : séquençage NGS / analyse des génomes viraux

Etat d'avancement : Avec cette technique, 29 échantillons d'eaux usées et 3 contrôles (négatif, positif à EV-A71, positif avec un mélange contenant un EV-A71, un EV-B, un EV-C99 et un EV-D68) ont été analysés. Les séquences obtenues ont été analysées par deux approches :

1. Analyse avec le logiciel « Dragen microbial enrichment »

Nous avons retrouvé dans les échantillons d'eaux usées quelques virus humains, pour lesquels des portions de génomes ont été reconstruites : astrovirus, polyomavirus. Les autres virus détectés sont les adénovirus, entérovirus, SARS-CoV-2, rotavirus et norovirus (séquences très partielles, voire non discriminantes pour certains). Pour le contrôle positif EV-A71, seul un fragment de génome de 2% a été reconstruit dans un échantillon. Pour le contrôle contenant 4 types différents, l'identification a été correcte pour 2 des 4 types. La base de données du logiciel ne permet pas la discrimination des types d'EV.

2. Identification des séquences par analyse contre la base de données du laboratoire

Nous avons analysé les données contre la base de données « entérovirus » du laboratoire. Les résultats montrent que les séquences attribuées aux EV représentent une très faible proportion des séquences totales (au mieux 6 séquences parmi plusieurs dizaines de milliers par échantillon). Concernant les contrôles positifs, nous avons détecté les entérovirus des espèces A et D, mais pas ceux des espèces B et C.

3. Conclusion

La technique de capture fonctionne bien sur les virus abondants (astrovirus) et les virus (adénovirus) dont la diversité est modérée. La diversité totale des entérovirus (>100 types) n'a pas été prise en compte dans son intégralité dans la conception des sondes. De plus, l'analyse n'est pas en mesure de produire une discrimination fiable car l'identification virale se fait sur une partie de génome impactée par la recombinaison inter-typique.

Objectif 2 : Développement d'une approche ciblée de séquençage NGS pour déterminer la diversité des entérovirus présents dans les eaux usées

Apport du CNR : séquençage NGS / analyse des génomes viraux

Etat d'avancement :

1. Amplification du génome complet des EV de l'espèce C

Antérieurement (2014-2015), nous avons mis au point une méthode permettant d'obtenir le génome complet des EV de l'espèce C à partir d'échantillons d'eaux usées avec un taux de réussite proche de

60%. Nous avons testé cette méthode sur 20 échantillons d'eaux usées traités avec une nouvelle technique de concentration. Même en sélectionnant des échantillons à forte charge virale, l'approche n'a pas été poursuivie à cause du faible taux de réussite (10%). Cet essai souligne l'importance de l'étape de concentration des eaux usées.

2. Amplification ciblée du génome partiel des entérovirus (espèces A et D)

Nous avons analysé 11 échantillons d'eaux usées provenant de différentes stations d'épuration du Puy-de-Dôme à l'aide de deux techniques d'amplification des génomes partiels : l'une ciblant les EV A et l'autre, les EV D. Les 2 techniques ont été validées au préalable sur les virus en culture. Au total, une amplification a été obtenue pour 21/22 (95%) échantillons. Les séquences obtenues ont été analysées à l'aide de 3 pipelines différents: 1/ Par analyse métagénomique (Dragen), les résultats ont montré que les données contenaient 1 à 40% de séquences d'EV par échantillon, environ 60% de séquences non identifiables et très peu de séquences d'origine bactérienne. L'assignation des EV n'était pas satisfaisante ; 2/ Par analyse BLAST à partir de la base de données du laboratoire, 10 types d'EV ont été détectés, appartenant à l'espèce A (n=4), mais aussi l'espèce B (n=3) et l'espèce C (n=3), grâce à l'amplification ciblant les EV-A. Aucun EV-D n'a été détecté avec aucune des 2 techniques. La comparaison avec les types circulant localement a montré une très bonne corrélation entre EV détectés dans les eaux usées et ceux détectés par la surveillance hospitalière. Jusqu'à 3 types d'EV différents en mélange ont pu être détectés dans un même échantillon ; 3/ Par reconstruction de demi-génomes viraux et en les comparant à notre base de données, 11 types d'EV ont été identifiés : espèce A (n=4), espèce B (n=3) et espèce C (n=4), grâce à l'amplification ciblant les EV-A . Aucun EV-D n'a été détecté. Jusqu'à 4 types d'EV différents en mélange ont pu être détectés dans un même échantillon ; l'abondance de chaque type variait selon la date et la station d'épuration considérée.

3. Conclusions

La méthode est fonctionnelle pour l'espèce A, et elle est capable d'amplifier de façon non spécifique des B et des C. La méthode fournit des séquences d'EV exploitables et permet la reconstruction génomique pour une identification fiable. L'absence de virus de l'espèce D dans les échantillons peut s'expliquer par le fait que ces virus n'ont pas circulé pendant la période, ou que la charge virale présente était insuffisante dans les échantillons testés. Une approche semblable est en développement pour les entérovirus de l'espèce B.

Etudes de séroneutralisation – ENPEN

Le laboratoire coordonnateur actuel (CHU Clermont-Fd) participe à une étude collaborative européenne pour homogénéiser et optimiser les méthodes de séro-neutralisation au sein du réseau ENPEN. Une première phase visant à évaluer les méthodes utilisées dans chaque laboratoire a été réalisée et a mis en évidence une grande hétérogénéité. Une deuxième phase est en cours en restreignant l'évaluation à une lignée cellulaire et à un virus donné.

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.2.1. Chapitres d'ouvrage

Les deux laboratoires du CNR EV-PeV ont participé à la rédaction de chapitres d'ouvrages de référence pour le diagnostic des infections à entérovirus, parechovirus et rhinovirus.

Référentiel de Microbiologie Médicale (REMIC) – 2022

- **Jeannoel M, Lina B, Mirand A, Schuffencker I.** Les entérovirus. Référentiel de Microbiologie Médicale (REMIC). Société Française de Microbiologie Ed. 2022 : 767-772.
- Botterel F, Decousser JW, **Henquell C**, Le Hello S. Notions d'épidémiologie moléculaire en microbiologie. Référentiel de Microbiologie Médicale (REMIC). Société Française de Microbiologie Ed. 2022 : 33-46.
- **Henquell C**, Lanotte P, Ruimy R, Wallon M. Infections du système nerveux central. Référentiel de Microbiologie Médicale (REMIC). Société Française de Microbiologie Ed. 2022 : 215-227.
- **Mirand A, Henquell C.** Parechovirus. Référentiel de Microbiologie Médicale (REMIC). Société Française de Microbiologie Ed. 2022 : 773-774.
- Andréoletti L, Le Goff J, **Mirand A**, Pozzetto B. Autres virus respiratoires. Référentiel de Microbiologie Médicale (REMIC). Société Française de Microbiologie Ed. 2022 : 823-834.

6.2.2. Publications internationales

Publication communes

1. Grapin M, **Mirand A**, Pinquier D, Basset A, Bendavid M, **Bisseux M**, **Jeannoel M**, Kireche B, Kossorotoff M, L'Honneur AS, Robin L, Ville Y, Renolleau S, Lemee V, Jarreau PH, Desguerre I, Lacaille F, Leruez-Ville M, Guillaume C, **Henquell C**, Lapillone A, **Schuffenecker I**, Aubart M. Severe and fatal neonatal infections linked to a new variant of echovirus 11, France, July 2022 to April 2023. Euro Surveill 2023 ; 28 : 2300253.

Publications du laboratoire coordonnateur

1. Helfferich J, Roodbol J, de Wit M-C, Brouwer OF, Jacobs BC 4, 2016 **Enterovirus D68 Acute Flaccid Myelitis Working Group** and the Dutch Pediatric GBS Study Group. Acute flaccid myelitis and Guillain-Barre syndrome in children: a comparative study with evaluation of diagnostic criteria. **European Journal of Neurology**, 2022 feb;29(2):593-604. doi: 10.1111/ene.15170. epub 2021 nov 24.

Dans cette publication I. Schuffenecker et B. Lina sont intégrés à L'EV-D68 AFM Working Group

Publications du laboratoire associé

1. Fourgeaud J, **Mirand A**, Demortier J, Kamus L, Collet L, Olivier S, **Henquell C**, Vauloup-Fellous C. Enterovirus meningitis in Mayotte French Comoros Island, March-June 2019. J Clin Virol. 2022. 150-151:105154. PMID: 35398601. doi: 10.1016/j.jcv.2022.105154
2. **Ngangas ST**, **Bisseux M**, Jugie G, Lambert C, Cohen R, Werner A, **Archimbaud C**, **Henquell C**, **Mirand A**, **Bailly JL**. Coxsackievirus A6 recombinant subclades D3/A and D3/H were predominant in hand-foot-and-mouth disease outbreaks in the paediatric population, France, 2010–2018. Viruses 2022, 14, 1078. doi: 10.3390/v14051078.

3. Bouzid D, Hadad O, Bertine M, Houhou-Fidouh N, **Mirand A**, Duval X, Bunel V, Borie R, Lucet JC, Descamps D, Visseaux B. Rhinoviruses : molecular diversity and clinical characteristics. Int J Infect Dis 2022: 118:144-149. doi: [10.1016/j.ijid.2022.02.055](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.02.055)

6.2.3. Communications internationales

1. Kimberley Benschop K, Simoes M, Fischer T, Harvala H and **ENPEN consortium**. Re-emergence of enterovirus D68 in Europe after easing the COVID-19 lockdown in 2021. Europec. Harrogate, UK. June 2022.

Dans cette communication, les membres des 2 laboratoires du CNR sont intégrés au Consortium ENPEN

6.2.6. Conférences sur invitation

- Mirand Audrey. **Point sur la surveillance ambulatoire de la maladie PMB/Herpangine**. Journées de l'AFPA, 2 avril 2022. Paris.
- Mirand Audrey. **Diagnostic des infections à entérovirus. Facile ... et pourtant ... Webinaire SFM-REMIC**. 15 Septembre 2022.

7 – Programmes d’activité pour les années suivantes

Pour le mandat 2023-2027, deux laboratoires associés (Laboratoire de Virologie du CHU Lyon et Centre coordonnateur Poliovirus OMS à l’Institut Pasteur) et un laboratoire coordonnateur (Laboratoire de Virologie du CHU Clermont-Ferrand) composent le CNR.

7.1. Activités de diagnostic, typage et surveillance

- **Amélioration continue de l’exhaustivité du typage moléculaire des EV**
- **Elargissement de la surveillance épidémiologique**
 - Augmenter la couverture hospitalière en métropole. Suite à l’alerte nationale sur les infections néonatales sévères, le collège de Bactériologie, Virologie et Hygiène Hospitalière regroupant les biologistes des centres hospitaliers non CHU a été contacté et sollicité pour participer à la surveillance en transmettant des échantillons pour typage.
 - Mettre en place et pérenniser la surveillance dans les territoires ultra-marins. Certains centres participent sporadiquement en transmettant des échantillons pour typage (CHU de Guadeloupe, Martinique, Nouméa, La Réunion) mais nous n’avons pas de données de surveillance permettant la détection d’épidémies et certains territoires ne sont pas couverts (Mayotte, Guyane). La mise en place de cette surveillance repose sur des collaborations avec des partenaires locaux dont certains appartiennent au Pasteur Network comme l’Institut Pasteur de Guyane. L’intégration du laboratoire de l’Institut Pasteur en tant que laboratoire associé depuis début 2023 devrait faciliter la mise en place de collaborations.
- **Poursuite de la surveillance des infections respiratoires à EV-D68**
- **Contribution aux réseaux européens et internationaux**

Courant 2023, le réseau ENPEN a proposé deux études collaboratives portant sur les infections à EV chez les enfants de moins de 3 mois (étude coordonnée par le Royaume Uni) et sur les infections à EV-A71 (étude coordonnée par le CNR EV-PeV).

7.2. Activités de recherche clinique

Afin de valoriser les données collectées par l’ensemble des laboratoires du réseau de surveillance des infections à EV, plusieurs études collaboratives nationales ont été proposées ou seront mises en œuvre :

- **Etude rétrospective collaborative multicentrique (RSE) sur les infections néonatales**

Dans les suites de l’alerte sur les infections néonatales graves à E-11, une étude rétrospective multicentrique sur les infections néonatales rapportées en 2022 avec comparaison à la période de référence 2016-2021 a été proposée aux membres du RSE.
- **Etude rétrospective collaborative multicentrique (RSE) sur les infections à EV-A71**

Une étude réalisée sur la période 2013-2018 avait fait l’objet d’une thèse de médecine et présentée fin 2019 au congrès de la RICAI. La valorisation de cette étude n’a pas pu être finalisée. La recrudescence des infections à EV-A71, observée en 2019 et début 2023, justifie la reprise de cette étude en incluant les données 2019-2023.

- **Infections chroniques des patients sous rituximab pour une maladie inflammatoire**

Les analyses de séro-neutralisation sur les serums des patients infectés par d'autres types d'EV que l'EV-A71 seront réalisées.

7.3. Activités de conseil, formation et information

Les responsables du CNR EV-PeV continueront à répondre aux demandes et sollicitations de la DGS, de Santé publique France à chaque fois que cela sera nécessaire.

Un bilan épidémiologique sera réalisé à l'été 2023 afin de faire le point sur les infections néonatales sévères à EV, suite à l'alerte spécifique.

7.4. Contribution à l'alerte

L'alerte récente sur les infections néonatales a illustré les liens étroits entre les réseaux de cliniciens, en particulier ceux entretenus par les pédiatres de Necker, centre de référence et de recours pour la pédiatrie et les laboratoires du CNR.

En cas d'alerte, les laboratoires du CNR seront en première ligne pour confirmer l'implication d'un EV dans des tableaux cliniques sévères et caractériser rapidement la souche responsable.

ANNEXES

Annexe 1 - Missions et organisations du CNR

1. 1. Missions et objectifs majeurs du CNR

Conformément au cahier des charges établi par le Ministère de la Santé, les missions principales du CNR EV-PeV en terme de santé publique sont : (1) de coordonner avec Santé publique France la surveillance épidémiologique des infections à EV et PeV ; (2) de surveiller l'introduction et l'éventuelle circulation de poliovirus potentiellement neurovirulents sur le territoire français ; (3) de promouvoir le diagnostic et de renforcer la surveillance des infections à PeV ; (4) de développer les techniques d'identification et de caractérisation des souches d'EV et de PEV, notamment en s'appuyant sur les nouvelles méthodes de séquençage (NGS, WGS).

La surveillance des infections humaines à EV s'appuie sur le Réseau de Surveillance des EV (RSE), réseau de 35 à 40 laboratoires de CHU (dont les 2 laboratoires du CNR) et CH qui transmettent mensuellement sur le site web du CNR le nombre de prélèvements analysés ainsi que les résultats de détection virologique et de typage moléculaire et les informations épidémiologiques pour les patients présentant une infection à EV.

L'objectif est double : alerter précocement sur la survenue d'une épidémie estivale de grande ampleur ou l'émergence d'une forme clinique inhabituelle et suivre les types d'EV associés aux différents syndromes cliniques. Outre le suivi épidémiologique des EV associés aux épidémies de méningites saisonnières, le typage moléculaire présente un intérêt particulier : (1) pour les tableaux d'infections neuro-méningées graves telles que les encéphalites ou les paralysies flasques aiguës (notamment pour documenter le rôle des EV non-poliomyélitiques et exclure les poliovirus), (2) pour toutes les infections à EV sévères (infections néonatales disséminées, infections associées à des tableaux de mort subite, myocardites, détresses respiratoires...), (3) pour la surveillance spécifique de l'EV-A71 et l'EV-D68 à potentiel épidémique et associés à des tableaux neurologiques et respiratoires graves, (4) pour l'investigation de cas groupés (contexte nosocomial). Les 2 laboratoires du CNR EV-PeV assurent au quotidien le diagnostic et le typage moléculaire des EV pour les CHU de Lyon et Clermont-Ferrand ainsi que les CH de France Métropolitaine ne disposant pas de ces techniques. Ils assurent également l'animation du réseau, conjointement avec Santé publique France. Au cours de l'année de surveillance, 2 à 3 bulletins rédigés conjointement par le CNR EV-PeV et Santé publique France font état de la situation épidémiologique et des données clinico-épidémiologiques et virologiques aux laboratoires du RSE. Si la situation le nécessite, des bulletins d'alerte peuvent être mis à disposition sur le site de Santé publique France, sur le site web du CNR EV-PeV ou diffusés aux cliniciens impliqués dans la prise en charge des patients. Au terme de chaque année de surveillance, un bilan de la surveillance est réalisé, dégageant les grandes tendances (année épidémique ou non, sérotypes et génotypes circulants, formes cliniques particulières).

Dans le cadre du programme international d'éradication de la poliomyélite, le LC du CNR EV-PeV, également Centre Collaborateur OMS (National Polio Lab), a pour mission de surveiller l'introduction et la circulation de poliovirus potentiellement neurovirulents, sachant que toute suspicion de poliomyélite clinique est à déclaration obligatoire sur le territoire français. La surveillance humaine s'appuie sur : 1/ le typage des souches détectées dans le cadre de la surveillance globale des infections à EV ; 2/ la recherche ciblée de poliovirus dans de rares tableaux de paralysie flasque aiguë (moins de 3 cas par an) ou chez des enfants adoptés ou des réfugiés venant de pays à risque avéré ou potentiel pour la circulation de poliovirus ; 3/ la détection de poliovirus en cas d'exposition accidentelle au poliovirus (personnel des laboratoires producteurs de vaccins polio essentiellement). La surveillance environnementale du Bassin Parisien (pratiquée entre 1973 et 2018) n'avait été

reconduite sur avis du HCSP (hcspace20191018_contenautduncasdepolouedtedepol.pdf). Toutefois, suite à la détection de VDPV2 dans les eaux usées de Londres et de certains comtés de l'Etat de New-York, il a été décidé de remettre en place une surveillance environnementale de la polio sur le territoire Métropolitain. Un projet est à l'étude porté par l'ANRS MIE avec pour objectifs :

- D'identifier une méthode standardisée de détection des PV dans les eaux usées (en s'affranchissant si possible de la culture sur L20B et RD)
- De définir une stratégie d'échantillonnage à l'échelle nationale
- De définir une stratégie de surveillance renforcée en cas de détection de poliovirus

Le CNR EV-PeV a également pour mission de promouvoir le diagnostic et le typage des infections systémiques à PeV chez les nouveau-nés et jeunes nourrissons, puisque des formes sévères peuvent être observées au cours de ces infections. Pour ce faire, le CNR EV-PeV s'appuie sur les laboratoires partenaires du RSE. Les objectifs sont de : (1) Connaître précisément l'épidémiologie des infections à PeV en France métropolitaine (2) Offrir une possibilité diagnostique au clinicien, sachant que le diagnostic des infections à PEV fait partie du diagnostic différentiel des infections à EV en période néonatale (3) Alerter sur la survenue d'une épidémie ou de formes cliniques inhabituelles et/ou sévères.

L'organisation du CNR EV-PeV et les moyens des deux laboratoires le composant en 2022 étaient similaires à ceux présentés dans le rapport d'activités 2020. Pour le mandat 2023-2027, les changements opérés ont été présentés dans le dossier de candidature et consistent notamment en :

- la nouvelle coordination du CNR EV-PeV par le laboratoire du CHU de Clermont-Fd
- le changement de direction du laboratoire associé du CHU de Lyon
- l'ajout d'un laboratoire associé – Institut Pasteur.

1.2. Présentation et moyens du laboratoire associé (2023)

1.2.1. Fiche d'identité

CNR des Entérovirus et Parechovirus – Laboratoire associé
Laboratoire de Virologie des Hospices Civils de Lyon
Institut des Agents Infectieux
Centre de Biologie Nord
Hôpital de la Croix-Rousse
103 Grande Rue de la Croix-Rousse
69317 Lyon cedex 04
Tél : 04 72 07 11 41 Fax : 04 72 00 37 54

Dr Isabelle Schuffenecker, PH, directrice
Email : isabelle.schuffenecker@chu-lyon.fr

Dr Marion Jeannoël, PHC, directrice-adjointe
Email : marion.jeannoel@chu-lyon.fr

1.2.2. Organisation

Organisation générale

Depuis Janvier 2018, les activités diagnostiques et spécialisées de Virologie, Bactériologie et Parasitologie des Hospices Civils de Lyon ont été regroupées au sein de l'Institut des Agents Infectieux (IAI). Cet Institut est localisé sur le site de l'Hôpital de la Croix-Rousse, Etablissement Sanitaire de Référence (ESR) régional pour la prise en charge des risques infectieux émergents ou ré-émergents. Intégré au Centre de Biologie Nord, l'IAI fait partie du Laboratoire de Biologie Multi Sites des Hospices Civils de Lyon. Il comporte quatre plateaux techniques mutualisés : le Plateau de Sérologie Infectieuse, le Plateau de Biologie Moléculaire en Infectiologie, le Plateau de Microbiologie 24h/24 et la Plateforme GenEpii de Séquençage en Infectiologie. Par ailleurs, il intègre 4 CNR, dont le CNR des Entérovirus et Parechovirus (figure 32).

Organisation du CNR EV-PeV

L'encadrement des activités médicales du CNR EV-PeV est assuré par Isabelle Schuffenecker, PH, directrice du CNR EV-PeV et Marion Jeannoël, PHC (nomination PH en 2024), directrice-adjointe et RAQ du CNR EV-PeV. Laurence Josset complète l'effectif en tant que co-responsable de la plateforme de séquençage des pathogènes infectieux et responsable du développement et de la mise à disposition des moyens techniques et bio-informatiques pour le séquençage haut-débit des EV, RV et PeV.

1.2.3. Moyens affectés au CNR

Moyens humains

L'équipe du CNR EV-PeV est constituée de personnel médical et technique financé par les Hospices Civils de Lyon et l'Université Claude-Bernard Lyon I (tableau 37). Cet effectif est dédié aux missions de surveillance des infections à EV et de la surveillance spécifique de la poliomyélite pour lequel le laboratoire est intégré au réseau International OMS des laboratoires accrédités pour la surveillance Polio. Un technicien supplémentaire a été recruté pour la prise en charge du suivi sérologique des salariés des unités productrices de vaccin polio de SANOFI et GSK et l'investigation de personnels potentiellement exposés au poliovirus (mission complémentaire depuis fin 2018).

Locaux

Les activités diagnostiques et de typage du CNR EV-PeV seront réalisées dans des locaux dédiés et mutualisés du Centre de Biologie.

Le CNR EV-PeV dispose d'un laboratoire L2 dédié (28 m²) destiné au traitement pré-analytique des échantillons biologiques, à certaines étapes des activités de typage moléculaire, et à la mise en culture des prélèvements et souches (Figure 5). Par ailleurs, il dispose d'un box au sein du laboratoire P3 pour la réalisation des sérologies poliovirus et la prise en charge d'échantillons potentiellement infectés par des poliovirus neurovirulents (personnels des laboratoires producteurs de vaccins polio essentiellement).

Il bénéficie de locaux et équipements mutualisés du Centre de Biologie (réception centralisée des échantillons 24h sur 24, plateau de Biologie Moléculaire, Plateforme de Séquençage Haut Débit dédiée aux Pathogènes Infectieux, plateau de culture de virus, centre de ressources biologiques).

Les mesures de sûreté et de sécurité microbiologique ont été renforcées dans le cadre de la double législation MOT et GAPIV s'appliquant à la détention et à la mise en œuvre des poliovirus. Elles ont fait l'objet d'inspections de l'ANSM en 2015, 2018 et 2022. Une nouvelle autorisation de détention et de mise en œuvre des poliovirus a été délivrée par l'ANSM, valable jusqu'en Juin 2026.

Equipements

L'équipement utilisé pour l'activité du CNR EV-PeV est en partie de l'équipement dédié et mutualisé. Une maintenance annuelle des hottes à flux laminaire, étuves, centrifugeuses, extracteurs d'acides nucléiques, thermocycleurs et pipettes est systématiquement réalisée. Tous les réfrigérateurs et congélateurs utilisés par le CNR EV-PeV sont équipés de sondes et enregistreurs de température reliés au système Sirius. Le stockage à long terme des souches et des prélèvements cliniques du CNR EV-PeV actuel se fait dans des congélateurs dédiés, situés dans les locaux au 5e étage du Centre de Biologie ou dans des locaux dédiés dans un bâtiment voisin du Centre de Biologie. Un congélateur fermé à clef et sous surveillance caméra 24h sur 24 et 7 jours sur 7, accessible uniquement aux personnels habilités MOT, est dédié au stockage des poliovirus, conformément à la demande de l'OMS et de l'ANSM.

Équipements dédiés (L2 et box polio L3)

Postes de sécurité microbiologique (2), étuves (4), microscopes (2), hotte pour préparation mix (1), hotte pour distribution des acides nucléiques/cDNA (1), thermocycleurs Eppendorf pour PCR conventionnelle (3), poste informatique (4) dont deux équipés du package Lasergene pour l'analyse de séquences), réfrigérateurs (2), congélateurs -20° (6), congélateurs -80° (2).

Équipements mutualisés de l'IAI

- Equipements du plateau de Biologie Moléculaire du CNR des Virus Respiratoires ou de la plateforme GenEpii utilisés par le CNR: extracteurs acides nucléiques EMag (1), Maxwell (1), MGI (1), hotte pour PCR nested (1), thermocycleurs ABI7500 (2) et Quant Studio (3) (diagnostic générique enterovirus, rhinovirus, parechovirus).
- Equipement de culture cellulaire utilisé par le CNR: poste de sécurité microbiologique (2), étuve à CO2 (1), microscope (1).
- Equipements de la plateforme de séquençage haut débit (genEPII) : robots pipeteurs utilisés pour la préparation de bibliothèques : Mosquito HV (SPT Labtech) (n=3) ; Dragonfly Discovery (SPT Labtech) (n=2) ; EpMotion (Eppendorf) (n=1) ; DreamPrep (Tecan) (n=1) ; séquenceurs haut débit : NovaSeq 6000 (Illumina) (n=1) ; NextSeq550 (Illumina) (N=1) ; Gridion (n=1) ; Minion (n=4)
- Centre de Ressources Biologiques

Collections de matériel biologique

Le laboratoire associé du CNR EV-PeV possède une collection de souches prototypes d'EV, rhinovirus et PeV ainsi que des souches cliniques isolées depuis 2000 et caractérisées génétiquement au cours de ses différents mandats de CNR.

Par ailleurs, le laboratoire associé possède une collection d'échantillons biologiques (LCS, selles, échantillons nasopharyngés) détectés positifs en EV, PeV ou rhinovirus dans le cadre de sa mission de surveillance et dûment caractérisés par séquençage.

Souches et échantillons cliniques pourront être transmis sur demande justifiée aux laboratoires partenaires du RSE, à des laboratoires industriels ou académiques via le Centre de Ressources Biologiques de l'IAI (certification NF S 96-900 depuis 2018 et certification ISO 20387 planifiée en 2023) et feront l'objet d'un MTA selon le contexte de la demande (un financement pourra être demandé pour la mise à disposition et le transport de ces souches).

Démarche qualité

Le laboratoire de Virologie fait partie intégrante du laboratoire de biologie médicale multi-sites (LBMMS) des Hospices Civils de Lyon (HCL) et applique la politique de management de la qualité définie par la Direction de la Biologie. Depuis Décembre 2014, le LBMMS est accrédité (n°:8-3442) selon la norme NF EN ISO 15189.

La mise en œuvre de la politique qualité au Laboratoire de Virologie implique l'ensemble du personnel et se fait sous la responsabilité du chef de service, de la responsable qualité et de la cellule qualité des HCL.

Organisation de la démarche qualité au CNR EV-PEV

Le CNR EV-PEV, comme les autres unités du laboratoire de Virologie, suit les exigences de la norme NF EN ISO 15189. La gestion des non-conformités, des habilitations du personnel, la rédaction documentaire et le suivi métrologique des équipements sont réalisés dans le logiciel qualité Kalilab. A réception des échantillons, sont tracées: la date de réception, la conformité de la température de transport, la conformité des examens demandés. L'enregistrement des prélèvements, des analyses et des dossiers patients destinés au CNR EV-PeV se fait dans le système informatique commun (GLIMS) du LBMMS sur l'UF du CNR EV-PeV. Toutes les étapes analytiques sont tracées (date extraction et volume d'élution, date et résultats PCR, date et résultats des données de séquençage) dans un dossier informatique à accès protégé. Les étapes de saisie, validation et édition des résultats sont tracées par le SGL. Les résultats de typage moléculaire sont saisis en temps réel sur le site Web dédié à la surveillance. Les échantillons reçus et ARN extraits sont conservés à -80° dans des biothèques dédiées (identification par numéro unique attribué lors de la création du dossier patient) dont la température est contrôlée par enregistreur de température.

Participation à des programmes d'évaluation externe de la qualité

Programmes internationaux d'évaluation externe de la qualité (OMS)

- **Depuis 2001**, participation annuelle au CQE international (distribué par le RIVM, Bilthoven) évaluant la capacité à **isoler et identifier les poliovirus et EV non polio** sur des échantillons de selles.
- **Depuis 2018**, participation annuelle au CQE international (distribué par l'IRR, USA) pour l'évaluation de la méthode de **typage moléculaire des poliovirus développée par le CDC**.

Programmes européens d'évaluation externe de la qualité (QCMD, Glasgow)

- **Depuis 2006**, participation au CQE européen pour l'évaluation des performances des techniques de **détection moléculaire des EV** (évaluation de la technique Enterovirus R-gene™; 1 programme par an).
- **Depuis 2011**, participation au CQE européen pour l'évaluation des techniques de **détection moléculaire des parechovirus** (évaluation de la trousse Parechovirus R-gene™; 2 programmes par an; ce CQE est utilisé en interne pour évaluer la technique de typage moléculaire des parechovirus).

- **Depuis 2016**, participation au CQE européen pour l'évaluation des techniques de **typage moléculaire des entérovirus**.

Echanges inter-laboratoires (EIL)

- **Depuis 2018**, un EIL a été mis en place avec les Laboratoires Biomnis et Pasteur-Cerba (organisation alternative par l'un des 3 laboratoires) pour **l'évaluation comparative de la technique de sérologie poliovirus par séroneutralisation** (technique de référence OMS).

Depuis 2019, un EIL annuel a été mis en place entre les laboratoires du CNR EV-PeV (organisation alternative) pour l'évaluation comparative des **techniques de détection et de typage de l'EV-D68**.

1.3. Présentation et moyens du laboratoire coordonnateur (2023)

1.3.1. Fiche d'identité

CNR entérovirus et parechovirus – Laboratoire coordonnateur
Laboratoire de Virologie CHU Clermont-Ferrand
Centre de Biologie
58, rue Montalembert
63003 Clermont-Ferrand cedex
Tél : 04 73 75 48 50 Fax : 04 73 75 48 51
Heures d'ouverture : 08h00-18h00 (lundi au vendredi) – 08h30-17h00 (samedi)
Astreinte technique et biologique

Pr Cécile Henquell, PU-PH, directeur et responsable scientifique

Email : chenquell@chu-clermontferrand.fr

Dr Audrey Mirand, MCU-PH, directeur adjoint

Email : amirand@chu-clermontferrand.fr

1.3.2. Organisation

Le service de Virologie du CHU de Clermont-Ferrand fait partie du Laboratoire de Biologie Médicale du CHU, au sein du Pôle de Biologie et d'Anatomie Pathologique. Il est situé sur le site de l'hôpital Gabriel Montpied, dans le Centre de Biologie (5^{ème} étage).

 [Organigrammes du service de virologie et du CNR \(Figures 34-35\)](#)

 [Organisation du CNR EV-PeV](#)

Le CNR est dirigé par le Pr Cécile Henquell, chef du service de Virologie, secondée par le Dr Audrey Mirand, MCU-PH en Virologie.

L'activité du CNR actuel est gérée sur le plan administratif par une unité fonctionnelle (UF 3806) individualisée au sein de l'activité du laboratoire. Elle bénéficie de la même organisation fonctionnelle que le laboratoire hospitalier, notamment d'une réception possible des échantillons biologiques 24h/24, d'un secteur pré-analytique et d'un secteur logistique mutualisés.

2-2.3. Moyens affectés au CNR

 [Moyens humains](#)

L'équipe dévolue aux activités du CNR est constituée de personnel médical et technique du CHU de Clermont-Ferrand et de personnel universitaire (Faculté de Médecine, Université Clermont Auvergne UCA). Pour le mandat 2023-2027, une nouvelle technicienne a été recrutée fin 2022 afin de remplacer un départ (1 ETP). Un second poste de technicien sera mis en place pour développer une activité régulière de culture cellulaire et de séquençage haut-débit (1 ETP).

Les changements opérés en 2022 sont indiqués en rouge dans le tableau 38 ci-contre.

Les autres biologistes médicaux du laboratoire de Virologie sont également associés à l'activité du CNR, puisqu'ils assurent des responsabilités dans les secteurs de biologie moléculaire et de culture cellulaire. Ils sont également impliqués dans des projets de recherche clinique ou appliquée sur la thématique des entérovirus.

Locaux

L'activité du CNR est localisée au CHU de Clermont-Ferrand au sein du laboratoire de Virologie médicale positionné dans le Centre de Biologie.

Surface parties techniques = 430 m²

L'activité quotidienne de virologie est structurée en 3 secteurs (figure 36) :

- **Sérologies virales** (pièces 5-B-33, 5-B-34, 5-B-35)
- **Cultures cellulaires** (pièces 5-B-02, 5-B-11)
- **Virologie moléculaire** (détection des génomes viraux : pièces 5-B-05, 5-B-07, 5-B-8 ; charges virales automatisées : pièce 5-B-31, et génotypage par séquençage : pièces 5-B-05, 5-B-07, 5-B-8)

Matériels et équipements actuels (Virologie, CHU)

Les principaux matériels et équipements utilisés pour l'activité du CNR sont les suivants :

- 1 robot pipeteur / aliquoteur Hamilton
- 4 automates d'extraction des acides nucléiques : 3 EasyMag™ (bioMérieux), 1 MGI
- 4 thermocycleurs classiques (Applied Biosystems, ThermoFisher et Eppendorf)
- 9 thermocycleurs pour PCR en temps réel: 1 ABI7500™ (Applied Biosystems), 2 RotorGene™ (Qiagen), 4 QuantStudio™ 5 (ThermoFisher), 2 CFX96™ (Biorad)
- 1 séquenceur automatique (technique Sanger) : ABI 3500Dx (ThermoFisher) à 8 capillaires
- 2 générateurs et cuves à électrophorèse
- PSM, étuves à CO₂ et des microscopes à contraste de phase pour cultures cellulaires
- Réfrigérateurs et congélateurs à -20 °C de biothèque reliés à une centrale de surveillance de température (VigiTemp™) ; congélateurs à -80°C et cuve à azote liquide reliés à un système de gestion technique bâtiment (GTB) géré 24h/24 par les services techniques du CHU
- Laboratoire de sécurité NSB3, permettant l'isolement et l'extraction du génome de souches responsable d'une forme clinique inhabituelle ou sévère, ou de souches particulièrement virulentes.

Nous disposons également de structures transversales au sein du CHU de Clermont-Ferrand :

- Plateforme de séquençage haut débit (Centre de Biologie, 3ème étage), équipée avec des robots d'extraction et de pipetage Beckman, 2 thermocycleurs et 2 séquenceurs haut débit MiSeq™ et 1 NextSeq550™ (Illumina), 2 Qubit et une TapeStation Agilent, congélateur -20°C et réfrigérateur
- Centre de Ressources Biologiques

En cas de défaillance de thermocycleurs (pour PCR) ou d'incubateurs à CO₂ (pour culture cellulaire) par exemple, les locaux et l'équipement présent du Laboratoire de Virologie universitaire (situé à 50m du Centre de biologie) permettent de suppléer à l'activité du CNR pour la réalisation d'examens urgents.

Collection de matériel biologique

L'ensemble des échantillons biologiques, extraits d'ARN ou surnageants de culture positifs pour la recherche d'EV, de PeV ou de rhinovirus et conservé à -80°C. La collection de souches du laboratoire est constituée de :

- Echantillons cliniques et extraits collectés dans le cadre de la surveillance

- Souches collectés à travers l'activité hospitalière depuis les années 70 dont une partie a été sérotypée (pools Melnick) et titrée. Les plus récentes sont identifiées par séquençage

- Souches prototypes

Des échantillons cliniques ou des souches peuvent être transmises sur demande argumentée à l'ensemble des laboratoires qui le souhaitent. Pour les demandes relatives à un projet de recherche particulier, la mise en place d'une convention (Material Transfer Agreement) peut être nécessaire.

Démarche qualité

Le service de Virologie fait partie du Laboratoire de Biologie Médicale (LBM) du CHU de Clermont-Ferrand, qui est accrédité depuis le 1^{er} août 2013 (N°8-3140) par le comité français d'accréditation COFRAC selon la norme ISO15189. Le LBM est régulièrement audité par le COFRAC. L'ensemble du personnel est mobilisé pour répondre aux exigences réglementaires, sous la direction du chef de service, du biologiste responsable de la démarche de qualité et d'une qualicienne en Virologie.

Le Service de Virologie s'appuie sur les processus supports de management de la qualité mis en place de façon transversale par le LBM du CHU de Clermont-Ferrand, la métrologie, la maintenance, la gestion des achats, l'hygiène et la sécurité, l'organisation et la communication, et la gestion du personnel et des compétences.

Concernant le CNR, le suivi de la documentation, des stocks de réactifs, ainsi que des non-conformités éventuelles et actions d'amélioration mises en place, est géré de la même manière que le reste des activités de virologie médicale, grâce à un logiciel spécialisé Kalilab. Conformément à la norme ISO15189, des contrôles de qualité internes et externes, des audits internes et un suivi d'indicateurs sont réalisés.

En 2021, et selon les nouvelles dénominations du COFRAC, Le laboratoire de Virologie est *a minima* accrédité sur l'examen représentatif de chaque ligne de portée présente au laboratoire. Concernant la ligne de portée MG06 (NGS), une demande d'extension a été faite en 2021, un audit interlaboratoire a été réalisé en 2022.

Les méthodes d'analyses en lien avec les activités du CNR et accréditées sont indiquées dans les tableaux en annexe 2.

Participation à des programmes d'évaluation externe de la qualité

1/ Participation aux programmes européens d'évaluation externe de la qualité – Quality Control for Molecular Diagnosis (QCMD)

- **Détection moléculaire des EV** depuis 2006 (2 programmes /an)
Méthodes évaluées : trousse Enterovirus-R GENE® (bioMérieux) sur deux automates différents de PCR en temps réel et la RT-PCR en temps réel quantitative développée par le laboratoire.
- **Détection et typage moléculaire des parechovirus** depuis 2011 (2 programmes /an)
Méthodes évaluées : trousse Parechovirus r-GENE® (bioMérieux) sur 2 automates différents, méthode de génotypage des PeV
- **Détection et typage moléculaire des rhinovirus** depuis 2012 (1 programme /an)
Méthodes évaluées : trousse MWS Enterovirus-Rhinovirus/Cc R-GENE® (bioMérieux) sur 2 automates de PCR en temps réel et méthode de génotypage par RT-PCR décrite par Savolainen *et al.* (2002) et complétée par celle de Linsuwanon *et al.* (2009).
- **Génotypage des entérovirus** depuis 2016 (1 programme /an)

2/ Participation à un programme d'évaluation inter-laboratoires entre les laboratoires du CNR EV-PEV. Ce programme organisé alternativement par l'un des deux laboratoires porte spécifiquement sur **la détection et le génotypage des entérovirus D68**.

Méthodes évaluées :

- Détection : RT-PCR en temps réel spécifique de l'EV-D68 décrite par Poelman et al. (2015), trousse MWS Enterovirus-Rhinovirus/Cc R-GENE® (bioMérieux) sur 2 automates de PCR en temps réel
- Génotypage : RT-PCR décrite par Savolainen *et al.* (2002) et complétée par celle de Linsuwanon *et al.* (2009) + méthodes de génotypage générique des entérovirus et spécifique de l'espèce D.

1.4. Procédures d'alerte

Le dispositif d'alerte polio est un dispositif d'alerte clinique et virologique répondant aux recommandations internationales de l'OMS.

1.4.1. CAT devant un cas cliniquement suspect de poliomyélite antérieure aiguë

Tout tableau de paralysie flasque aiguë en contexte fébrile et sans déficit sensitif associé doit faire évoquer le diagnostic de poliomyélite antérieure aiguë (PAA) (Figure 37). La pré-existence de douleurs dans le territoire paralysé, l'asymétrie du déficit moteur et la constitution rapide d'une amyotrophie renforcent la suspicion diagnostique, de même que l'existence d'arguments épidémiologiques associés (statut vaccinal non immunisé ou inconnu, notion de voyage en zone d'endémie dans les 30 jours, contact avec un cas confirmé). Cette éventualité est rare en France Métropolitaine.

Toute suspicion clinique doit immédiatement être signalée à l'ARS et doit faire l'objet d'investigations virologiques rapides.

Deux échantillons de selles prélevés à 24h d'intervalle devront être adressés au CNR EV-PeV à Lyon (laboratoire national référent pour la polio) pour détection par RT-PCR et typage moléculaire (par la technique développée par le CDC). Un prélèvement nasopharyngé sera également prévu pour la recherche d'EV non poliomyélitique (EV-D68, EV-A71) pouvant également être à l'origine de tableaux de paralysies aiguës flasques. L'acheminement des échantillons devra respecter la norme UN3373.

Toute détection ou isolement fortuit de poliovirus à partir de prélèvements humains doit également faire l'objet d'un typage moléculaire par le CNR EV-PeV afin de déterminer s'il s'agit d'un poliovirus vaccinal ou potentiellement neurovirulent (dérivé de vaccinal ou sauvage). En cas d'envoi de souches à caractériser, une autorisation devra être demandée à l'ANSM.

Toute confirmation biologique de PAA par le CNR ou toute détection fortuite de poliovirus neurovirulent (WPV, VDPV) ou de souche Sabin 2 doit faire l'objet d'une notification sous 24h à l'ARS et Santé publique France. Les instances nationales (DGS) ont la responsabilité de notifier le cas au bureau européen OMS de la poliomyélite (Copenhague). Dans tous les cas, un suivi de l'excrétion

virale dans les selles devra être réalisé. Selon le contexte, une caractérisation moléculaire de la souche pourra s'avérer nécessaire (envoi au Laboratoire Référent Européen ou au CDC) de même que la réalisation de prélèvements systématiques chez l'entourage ou de prélèvements environnementaux autour de la résidence du cas.

1.4.2. CAT devant un cas d'exposition aux poliovirus

Cette situation s'applique principalement aux laboratoires fabriquant des vaccins anti-poliovirus. L'évaluation du risque d'exposition du personnel au PV devra se faire selon les critères définis par le guide de l'OMS en cas de rupture de confinement.

Le niveau de risque dépend en partie du type de virus (mais aussi du contexte d'exposition) et conditionne la mise en isolement/quarantaine des personnels exposés, les investigations virologiques à réaliser et les mesures à prendre autour des cas :

- ✓ **Risque très élevé : WPV2**
- ✓ **Risque élevé : WPV1, WPV3**
- ✓ **Risque faible : SL2**
- ✓ **Risque minimal : SL1, SL3**

Les investigations virologiques s'appuient sur les recommandations de l'OMS (type de prélèvements, calendrier des prélèvements) et devront prouver la négativation de l'excrétion.

Les mesures de prise en charge des personnels exposés et de leurs contacts sont identiques à celles présentées en Figure 37. Une étape de concertation est systématiquement prévue entre le médecin du travail, l'ARS, SPF et le CNR.

Les incidents avec risque d'exposition avéré doivent faire l'objet d'un signalement systématique au niveau de l'ARS. Les instances nationales (DGS) sont en charge de les déclarer à l'OMS (en cas d'exposition à une souche neurovirulente ou à toute souche de sérotype 2).

Par ailleurs, tout incident dans les laboratoires producteurs de vaccins doit être signalé au préfet (ICPE).

1.4.3. Alerte concernant les infections à EV non poliomyélitiques

Les données démographiques et clinico-virologiques des infections à EV ou à PeV diagnostiquées par les laboratoires du RSE sont saisies en ligne sur le site web dédié. Le délai de recueil a été optimisé, pour pouvoir disposer en temps réel d'un maximum d'informations. L'analyse des données cliniques disponibles est réalisée régulièrement par les 2 laboratoires du CNR EV-PeV.

Epidémies de méningites

Sur la page d'accueil du site, il est possible de voir en temps réel le nombre de méningites à EV rapportées par les laboratoires depuis le début de l'année en cours. La recrudescence des méningites saisonnières est signalée à Santé Publique France qui corrèle cette information à celle obtenue au travers du système OSCOUR qui enregistre le nombre de passages aux urgences pour tableau de méningite virale. Lorsque l'épidémie paraît être d'ampleur inhabituelle, une information est mise à

disposition sur le site de Santé publique France et une alerte est adressée par mail aux laboratoires du RSE par les CNR EV-PeV et Santé publique France.

✚ Infections sévères ou recrudescence des infections à EV-A71 ou EV-D68

Toute forme clinique inhabituelle est signalée par le CNR EV-PeV à Santé publique France soit par appel téléphonique au Département des Maladies Infectieuses (Mme Laura Zanetti) soit par message électronique et répercutée aux membres du RSE. Inversement, si Santé publique France est informé par l'ECDC ou les réseaux de veille internationaux de la survenue de cas groupés ou épidémiques sévères (ex : cas groupés d'atteintes neurologiques sévères), il tiendra informé le CNR EV-PeV qui répercutera l'information aux laboratoires du RSE. Les différentes alertes pourront également être communiquées *via* le site web du CNR EV-PeV.

La nécessité de rapporter rapidement toute atteinte neurologique sévère (encéphalite et/ou myélite) est régulièrement rappelée à l'ensemble des membres du réseau de surveillance afin de pouvoir détecter le plus précocement possible un éventuel signal. De même, il est précisé à chaque alerte le type de prélèvement à réaliser pour optimiser le diagnostic des infections neurologiques sévères : LCS, sang, nasopharyngé, selles.

Annexe 2 – Capacités techniques du CNR EV-PeV

2.1. Laboratoire associé – CHU Lyon (2023)

2.1.1. Liste des techniques disponibles

Le laboratoire associé dispose d'un ensemble de méthodes de détection et de typage moléculaire des EV, PeV et rhinovirus applicables à tous les échantillons biologiques reçus au laboratoire dans le cadre de la surveillance (LCS, échantillons nasopharyngés et de gorge, bronchiques, sanguins, de selles, prélèvements de vésicules, biopsies, liquide péricardique, surnageants de culture) (Tableau 39). Le typage de routine repose sur le séquençage NGS hebdomadaire d'amplicons correspondant à des régions génomiques ciblées. Pour les échantillons urgents, le séquençage est réalisé par un prestataire externe (délai post-PCR de rendu des séquences : 24h). Le séquençage du génome complet de souches sélectionnées est réalisable sur un mode hebdomadaire par séquençage direct de l'ARN (approche métatranscriptomique)

Par ailleurs, le LA dispose de méthodes de culture et de titrage applicables aux poliovirus et EV non polio

Concernant la surveillance de la poliomyélite, le CNR EV-PeV fait partie du réseau international des laboratoires polio et est accrédité par l'OMS pour l'isolement par culture des poliovirus et le typage moléculaire des poliovirus par RT-PCR temps réel.

Enfin, il est en capacité de réaliser des sérologies polio par séroneutralisation et l'unique laboratoire de biologie médicale français habilité pour la mise en œuvre des poliovirus vaccinaux 2 et 3 (souches Sabin) pour la réalisation des sérologies polio complètes notamment pour les salariés travaillant pour les sites industriels producteurs de vaccin.

Tableau 37. Liste récapitulative des techniques disponibles au laboratoire associé – CHU Lyon

Virus	Méthodes	Trousses, méthodes et références	Séquence génomique	Fréquence	Capacité par semaine	Délai minimum (à réception de l'échantillon)
Détection						
EV	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	Enterovirus-R gene®, bioMérieux (ABI 7500 ou QuantStudio) BIOFIRE® FILMARRAY® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel \$	5' NC	1 à 5/7* 7/7	90 - 540	6h 1h (LCS)
EV	RT-PCR en temps réel spécifique EV-D68	Poelman <i>et al.</i> , J Clin Virol, 2015 (ABI 7500 ou MGI)	5' NC	1 à 5/7*	90 - 1080	6h
PeV	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	Parechovirus-R gene®, bioMérieux (ABI 7500 ou QuantStudio) BIOFIRE® FILMARRAY® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel \$	5' NC	1 à 5/7* 7/7	90-540	6h 1h (LCS)
RV	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	Panther Fusion® RV/ADV/MPV assay	5' NC	6/7	90-540	3h
Typage moléculaire par RT-PCR temps réel						
POLIO		rRT-PCR ITD 5.1 kit rRT-PCR VDPV 5.0 kit		1 à 5/7	50 en cas d'alerte	24h
Typage moléculaire par RT-PCR nichée et séquençage haut débit des amplicons**						
EV	Typage par RT-PCR et Séquençage haut-débit d'amplicons	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Génotypage spécifique d'espèce : RT-PCR semi-nichées ciblant la région VP1 (gène 1D complet) pour les espèces d'entérovirus A, B et D (amorces développées par le laboratoire coordonnateur) (Mirand <i>et al.</i>, 2008 ; Mirand <i>et al.</i>, 2012) ▶ Génotypage générique : <ul style="list-style-type: none"> - RT puis PCR nichée ciblant la région VP1 (gène 1D partiel) (Nix <i>et al.</i>, 2008) adaptée par le laboratoire associé du CNR. - RT-PCR ciblant la région VP4/VP2 (gène complet 1A et partiel 1B) (Savolainen <i>et al.</i>, 2002) adaptée par le laboratoire coordonnateur du CNR et complétée en cas d'échec par une PCR nichée (Linsuwanon <i>et al.</i> 2009) adaptée par le laboratoire associé du CNR. ▶ Séquençage Illumina sur NovaSeq 	VP1 VP4-VP2	1 à 2/7*	90 - 756	5-10 jrs

Tableau 37 (suite)

PeV	Typage par RT-PCR et Séquençage haut-débit d'amplicons	RT puis PCR nichée ciblant la région VP1 complète (Nix <i>et al.</i> , 2010), optimisée par le CNR Laboratoire associé ▶ Séquençage Illumina sur NovaSeq	VP1	1 à 2/7*	90 - 756	5-10 jrs
RV	Typage par RT-PCR et Séquençage haut-débit d'amplicons	- RT-PCR ciblant la région VP4/VP2 (gène complet 1A et partiel 1B) (Savolainen <i>et al.</i> , 2002) adaptée par le laboratoire coordonnateur du CNR et complétée en cas d'échec par une PCR nichée (Linsuwanon <i>et al.</i> (2009) adaptée par le laboratoire associé du CNR. ▶ Séquençage Illumina sur NovaSeq	VP4-VP2	1 à 2/7*	90 - 756	5-10 jrs
Séquençage haut débit de génomes complets						
EV PeV RV	Caractérisation des génomes complets par séquençage haut débit	- Approche métatranscriptomique sur TECAN DreamPrep™ NGS workstation (Revelo™ RNA-Seq high sensitivity library preparation kit)	Génome complet	Par séries hebdomadaires selon besoins	90	5-10 jrs
Sérologies polio						
PV		Technique par séroneutralisation (durée : 6 jours) permettant le titrage des Ac anti-polio 1, 2 et 3	Non applicable	1 à 2/7	60	7-21 jours
Culture virus sur lignées cellulaires +/- titrage						
Poliovirus	Culture sur lignées cellulaires et titrage	Lignées continues : L20B et RD	Non applicable	A la demande	Non applicable	2-15 jours***
Entérovirus	Culture sur lignées cellulaires et titrage	▶ Lignées continues : cellules HEP2, VERO, RD ▶ Cellules diploïdes humaines : MRC5	Non applicable	Par série ou à la demande	Non applicable	2-15 jours***

*Selon nombre de demandes ; **Pour les demandes de typage urgente, le typage par séquençage partiel des génomes est réalisé par un prestataire externe (délai de rendu des séquences post-PCR : 24h) ;

*** Selon la vitesse de réplication des virus § Techniques réalisées sur le plateau mutualisé de Biologie Moléculaire

2.2.2. Liste des techniques accréditées

Accréditation des analyses

Analyses déjà accréditées :

- Isolement poliovirus en culture et typage moléculaire des poliovirus par RT-PCR (accréditation OMS)
- PCR EV-D68 spécifique et sérologie polio par séroneutralisation (Mai 2022) (norme ISO 15189)

Analyses à accréditer :

- PCR EV et PEV générique : calendrier prévisionnel : 2024 (norme ISO 15189)
- Géotypage des souches d'EV, parechovirus et rhinovirus par séquençage haut-débit : calendrier prévisionnel : 2024 (norme ISO 15189)

2.2. Laboratoire coordonnateur– CHU Clermont-Fd (2023)

2.2.1. Liste des techniques disponibles

Les techniques de détection listées ci-dessous peuvent être réalisées directement à partir d'échantillons biologiques variés : LCS, gorge, prélèvement nasopharyngé, prélèvement de lésion cutanée ou muqueuse, selles, sang, biopsie, liquide amniotique et prélèvements environnementaux (eaux usées), ou de surnageant de culture.

Elles comprennent les **méthodes de diagnostic et de génotypage** des entérovirus, parechovirus et rhinovirus par des méthodes génériques ou spécifiques et par séquençage Sanger et haut débit (caractérisation précise des souches circulantes et/ou d'un type en particulier en cas d'épidémie). L'ensemble de ces méthodes peuvent être mis en œuvre en urgence (tableau 3). Les méthodes de **culture cellulaire (différentes lignées) et de titrage** sont également réalisables pour la constitution d'une souchothèque parfaitement définie, en y associant les données de séquençage. Des méthodes de **séroneutralisation** peuvent également être appliquées pour les études de séroprévalence.

Dans le tableau 40 ci-dessous, la capacité maximale par semaine est indiquée à titre indicatif et ne prend en compte que l'équipement actuel du laboratoire coordonnateur. Les méthodes accréditées sont indiquées par une astérisque.

Tableau 40. Liste récapitulative des techniques disponibles au laboratoire coordonnateur – CHU Clermont

Virus	Méthodes	Trousses, méthodes et références	Séquence génomique	Rythmicité	Capacité maximum par semaine	Délai minimum
Entérovirus	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	<ul style="list-style-type: none"> ▶ RT-PCR en temps réel (Enterovirus R-GENE®, bioMérieux) * ▶ RT-PCR en temps réel (Rhino&EV/Cc r-GENE®, bioMérieux) ▶ RT-PCR en temps réel multiplex (détection EV/HRV) (BIOFIRE® Respiratory 2.1 plus Panel) Automates disponibles : ABI7500, RotorGene (n=2), CFX96 (n=2), QuantStudio5 (n=3)	5' non codante	5/7	360 - 900	4h
Entérovirus	Diagnostic spécifique par RT-PCR en temps réel	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Spécifique EV-D68 (Poelman <i>et al.</i>, 2015) Automate : ABI7500	1D (VP1)	Période de circulation (6/7)	1080	4h
Entérovirus	Quantification de l'ARN viral	RT-PCR en temps réel quantitative développée par le laboratoire (Volle <i>et al.</i> , 2012) - Automate : RotorGene (n=2)	5' non codante	A la demande	Non applicable	4h
Entérovirus	Identification par génotypage : RT-PCR nichée et séquençage Sanger	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Génotypage spécifique d'espèce : RT-PCR semi-nichées ciblant la région VP1 (gène 1D complet) pour les 4 espèces d'entérovirus A à D et développées par le laboratoire - Mirand <i>et al.</i>, 2008 (espèce B); 2012 (espèce A) ; 2014 (espèce A) ; 2016 (espèce D) – Espèce C, méthode non publiée. ▶ Génotypage générique : <ul style="list-style-type: none"> - RT puis PCR nichée ciblant la région VP1 (gène 1D partiel) (Nix <i>et al.</i>, 2008). - RT-PCR ciblant la région VP4/VP2 (gène complet 1A et partiel 1B) à l'aide des amorces décrites par Savolainen <i>et al.</i>, 2002, adaptée par le CNR Laboratoire coordonnateur (Henquell <i>et al.</i>, 2012). Cette PCR peut être suivie en cas d'échec par une PCR nichée à l'aide des amorces décrites par Linsuwanon <i>et al.</i> (2009). Automates : Thermocyclers classiques (n=6) / Séquenceur ABI3500Dx à 8 capillaires	1D (VP1) ou 1A-1B (VP4-VP2)	5/7	120	48h

Tableau 40 (suite)

Entérovirus	Caractérisation précise des souches par séquençage haut débit	► RT-PCR permettant l'amplification d'un génome complet à l'aide d'amorces spécifiques développées par le laboratoire coordonnateur (Tomba <i>et al.</i> , 2022 (espèce A), Duval <i>et al.</i> , 2021 (espèce D), espèces B et C (non publiées) puis séquençage haut débit longs fragments (Sequel I PacBio, sous traitance) ou fragments courts (Illumina NextSeq 2x150 paired end, plateforme de séquençage du laboratoire)	Génome complet	A la demande	92	72h
Entérovirus	Culture cellulaire et titrage	► Lignées continues : cellules RD (dérivées d'un rhabdomyosarcome), cellules Véro (dérivées de rein de singe) ► Cellules diploïdes humaines : fibroblastes embryonnaires humains (MRC5)	Souche virale	Par série	Non applicable	7-15 jours
Entérovirus	Séroneutralisation	► Lignée continue : cellules RD	-	Par série	Non applicable	-
Parechovirus	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	► RT-PCR en temps réel (Parechovirus R-GENE®, bioMérieux) * Automates : RotorGene (n=2)	5' non codante	5/7	360 - 900	4h
Parechovirus	Identification par génotypage : RT-PCR nichée et séquençage Sanger	RT puis PCR nichée ciblant la région VP1 complète puis séquençage Sanger (Nix <i>et al.</i> , 2010, optimisée par le CNR Laboratoire associé)	1D (VP1)	5/7	60	48h
Rhinovirus	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	► RT-PCR en temps réel (Rhino&EV/Cc r-gene®, bioMérieux) ► RT-PCR en temps réel multiplex (détection EV/HRV) (BIOFIRE® Respiratory 2.1 plus Panel)	5' non codante	5/7	360 - 900	4h
Rhinovirus	Identification par génotypage : RT-PCR +/- nichée et séquençage Sanger	► RT-PCR classique ciblant la région VP4/VP2 (Henquell <i>et al.</i> , 2012, d'après les amorces décrites par Savolainen <i>et al.</i> , 2002) suivie en cas d'échec par une PCR nichée à l'aide des amorces décrites par Linsuwanon <i>et al.</i> (2009).	1A-1B (VP4-VP2)	5/7	240	48h

2.2.2. Liste des techniques accréditées

Les examens ci-dessous sont accrédités depuis **mars 2016** :

- **Détection moléculaire des entérovirus** – Trousse Enterovirus R-gene™ (bioMérieux) sur ABI7500 (Applied Biosystems) et Rotorgene 6000 (Qiagen)
- **Détection moléculaire des parechovirus** – Trousse parechovirus r-gene™ (bioMérieux) sur Rotorgene 6000 (Qiagen) et Rotorgene Q (Qiagen).

Calendrier prévisionnel d'accréditation :

- Géotypage des souches d'EV, parechovirus et rhinovirus par séquençage Sanger : **2024**