



RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITE 2024

CNR Entérovirus et parechovirus

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	Laboratoire de Virologie, CHU Clermont-Ferrand	Pr Cécile HENQUELL
Laboratoire Associé	Laboratoire de Virologie, CHU Lyon	Dr Isabelle Schuffenecker
Laboratoire Associé	Centre collaborateur OMS polio, Institut Pasteur Paris	Maël BESSAUD

Résumé analytique.....	6
Faits marquants.....	6
Executive summary.....	7
Highlights.....	7
1.Missions et organisation du CNR	8
Organigramme.....	8
Mission et Organisation.....	8
Démarche Qualité.....	10
2.Activités d'expertise	11
2.1. Evolution des techniques.....	11
2.1.1.Laboratoire coordonnateur – Clermont-Ferrand (LC).....	11
2.1.2. Laboratoire associé – Lyon (LA L).....	11
2.1.3. Laboratoire associé – Institut Pasteur (LA IP).....	12
2.2. Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	12
2.2.1. Evaluation de la performance des techniques de détection moléculaire des entérovirus utilisés par les laboratoires du RSE.....	12
2.2.2 Evaluation inter-laboratoires (EIL) pour la détection et le typage de l'entérovirus D68 (EV-D68).....	14
2.2.3 Evaluation inter-laboratoires pour le titrage des anticorps anti-poliovirus.....	14
2.2.4. Evaluation de trousse.....	14
2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	14
2.4. Collections de matériel biologique.....	14
2.5. Activités d'expertises.....	16
2.5.1. Recherche et identification des entérovirus.....	16
2.5.2. Recherche et identification des parechovirus.....	21
2.5.3. Activité de séroneutralisation des EV non polio-myélitiques.....	24
2.6. Activités de séquençage.....	24
2.6.1. Laboratoire coordonnateur - Clermont-Ferrand.....	24
2.6.2.Laboratoire associé (Lyon).....	26
2.6.3. Laboratoire associé (Institut Pasteur).....	28
2.7. Partage de séquences produites par les CNR.....	29
2.7.1.Laboratoire de Clermont-Ferrand.....	29
2.7.2.Laboratoire de Lyon.....	29
2.7.3.Laboratoire de l'Institut Pasteur.....	29
3. Activités de surveillance	30
3.1. Description du réseau de partenaires.....	31
3.1.1. Surveillance hospitalière : le RSE et autres réseaux.....	31
3.1.2.Surveillance ambulatoire de la maladie pied-main-bouche (PMB).....	33
3.2. Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	33
3.2.1. Bilan épidémiologique et clinico-virologique.....	33
3.2.2.Surveillance de la poliomyélite.....	57

3.2.3. Surveillance des infections à parechovirus en France métropolitaine.....	61
3.2.4. Surveillance des infections à EV, rhinovirus et parechovirus dans les DROM.....	64
3.3. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	66
3.3.1. Surveillance nationale.....	66
3.3.2. Surveillance internationale.....	66
3.4. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance.....	67
3.4.1. Investigations virologiques d'une épidémie précoce de méningites et d'ampleur inhabituelle au CHU de Brest.....	67
3.4.2. Suivi de l'immunité anti-polio chez les salariés exposés aux poliovirus.....	68
3.4.3. Suivi de l'immunité anti-polio au CHU de Lyon.....	68
3.4.4. Suivi de l'immunité anti-polio hors CHU de Lyon.....	68
3.4.5. Surveillance environnementale durant les Jeux Olympiques et paralympiques 2024.....	68
4. Alertes.....	70
4.1. Infections à EV non poliomyélitiques.....	70
4.1.1. Recrudescence des infections à EV-D68.....	70
4.1.2. Epidémies de conjonctivites hémorragiques à Mayotte – Janvier 2024.....	70
4.1.3. Cluster de formes sévères d'infections à RV-EV chez six enfants suivis pour cardiopathie – Rouen, 2024.....	70
4.2. Poliovirus.....	71
4.2.1. Surveillance environnementale à Mayotte (janvier 2024).....	71
4.2.2. Détection de VDPV3 en Guyane française.....	71
4.2.3. Investigations virologiques autour de la contamination accidentelle d'une salariée par du poliovirus 3 sauvage en secteur industriel.....	72
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil.....	73
5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé.....	73
Conseils par mail et appels téléphoniques.....	73
Site web du CNR.....	73
Bulletins épidémiologiques.....	74
Formations.....	74
5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires.....	74
5.2.1. Surveillance polio.....	74
5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public...).....	75
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....	76
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.....	76
6.1.1. Travaux de recherche communs.....	76
6.1.2. Travaux de recherche LC.....	77
6.2. Liste des publications et communications concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	78
6.2.1. Chapitres d'ouvrage.....	78
6.2.2. Publications internationales.....	79
6.2.3. Communications orales.....	80
7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux.....	81
8. Programme d'activité pour les années suivantes.....	82
8.1. Participation active à la surveillance des laboratoires des départements et régions d'Outre-Mer.....	82

8.2. Enquêtes de séroprévalence poliovirus, EV-A71 et EV-D68.....	82
8.3. Etude rétrospective multicentrique sur la recrudescence des infections à EV-D68 en 2024	82
8.4. Epidémiologie des infections à EV-A71 en Europe (ENPEN).....	83
8.5. Analyse rétrospective des cas de méningo-encéphalites à EV chez des patients atteints de SEP traités par anti-CD20 (2019-2024).....	83
1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	84
1.1. Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	84
1.2. Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	85
1.2.1 Répartition de l'activité.....	85
1.2.2 Procédure d'alerte élaborée conjointement par le CNR et Santé publique France	85
1.2.3 Procédure d'alerte polio.....	85
1.2.4 Organisation du laboratoire coordonnateur CHU Clermont-Ferrand	88
1.2.5 Laboratoire associé CHU de Lyon (LA L).....	89
1.3. Locaux et équipements.....	90
1.3.1 Laboratoire coordonnateur CHU Clermont-Ferrand	90
1.3.2 Laboratoire associé du CHU Lyon (LA L).....	91
1.3.1 Laboratoire associé Pasteur (LA IP).....	92
1.4. Collections de matériel biologique	93
1.4.1 Laboratoire coordonnateur	93
1.4.2. Laboratoire associé LYON.....	94
1.4.3 Labo associé Institut Pasteur.....	94
1.5. Démarche qualité du laboratoire	94
1.5.1. Labo coordonnateur	94
1.5.2 Labo associé LYON.....	95
1.5.3 Labo associé Pasteur	95
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	97
2.1. Liste des techniques de référence.....	97
2.1.1 Laboratoire coordonnateur	97
Liste des techniques accréditées.....	97
2.1.2 Laboratoire associé Lyon.....	100
2.1.3 Laboratoire coordonnateur Pasteur	100
2.2. Liste des techniques recommandées par le CNR.....	105
3. Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)	106
3.1. Permanence du CNR	106
3.2. Autorisations MOT	107
3.3. Autorisations d'exercer la biologie médicale.....	107
3.4. Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo.....	107
3.5. Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France	108
3.6. Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR.....	109
3.7. Alerte relative à la contamination accidentelle d'une salariée par du poliovirus 3 sauvage en secteur industriel.....	109
3.8. Autres remarques à destination du comité des CNR	109

4. Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques (non destinées à être rendues publiques)	110
4.1 Laboratoire coordonnateur	110
4.2. Laboratoire associé LYON	111
4.3 Labo associé Pasteur	111

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

Le CNR des entérovirus (EV) et parechovirus associe un laboratoire coordonnateur (Virologie, CHU Clermont-Ferrand) et deux laboratoires associés (Virologie, CHU Lyon – LA Lyon et le Centre collaborateur polio OMS, Institut Pasteur – LA IP).

En 2024, 35 laboratoires du Réseau de Surveillance des Entérovirus (RSE) et 49 laboratoires hors RSE ont participé à la surveillance hospitalière des infections à EV.

L'année 2024 a été caractérisée une épidémiologie des infections à EV similaire à celle des années pré-Covid-19 (+62% d'infections par rapport à 2023), avec 1/ une **épidémie de méningites** d'ampleur modérée, 2/ une recrudescence importante des infections respiratoires à **entérovirus D68** à partir de l'été sans recrudescence des atteintes neurologiques sévères, 3/ une très faible circulation d'**entérovirus A71**, et 4/ une épidémie de conjonctivites hémorragiques à **coxsackievirus A24 variant** en début d'année à Mayotte.

Concernant la **surveillance des poliovirus**, l'année 2024 a été marquée par des détections multiples de VDPV2c dans les eaux usées de plusieurs pays d'Europe. En France, la découverte fortuite de VDPV3 dans les eaux usées en Guyane en juin a mobilisé le LA IP, seul habilité en France pour ce type d'expertise. Une surveillance de 12 mois est en cours, la dernière détection de VDPV3 remontant à Août. Le LA Lyon a aussi été mobilisé pour la détection et le suivi de l'excrétion d'un PV3 sauvage suite à une exposition en secteur industriel. Le CNR remplit ses missions d'expertise par sa participation aux « cellules de crise » en Guyane, en France métropolitaine et à la saisine de la DGS concernant la conduite à tenir en cas de détection de poliovirus dans les eaux usées.

Concernant les **parechovirus**, 147 infections ont été rapportées, dont la majorité chez les enfants < 3 mois. Onze enfants (9 jours - 1 an) ont présenté des infections sévères.

Enfin, certains centres hospitaliers de **départements ultramarins** ont initié une participation plus soutenue à la surveillance.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

The National Reference centre (NRC) for enteroviruses (EV) and parechoviruses (HPEV) comprises a coordinating laboratory (Virologie, CHU Clermont-Ferrand) and two associated laboratories (Virologie, CHU Lyon – LA Lyon and the WHO Polio Collaborating Centre, Institut Pasteur- LA IP).

In 2024, 35 laboratories from the Réseau de Surveillance des Entérovirus (RSE) and 49 laboratories outside the RSE took part in the hospital surveillance of EV infections.

The epidemiology of EV infections in 2024 was similar to that reported during the pre-Covid-19 years (+62% infections compared to 2023), with 1/ a moderate outbreak of meningitis, 2/ a major resurgence of enterovirus D68 respiratory infections from the summer onwards, without any remarkable upsurge of severe neurological conditions, 3/ a very low circulation of enterovirus A71, and 4/ an outbreak of coxsackievirus A24 variant hemorrhagic conjunctivitis, at the beginning of the year in Mayotte island.

In terms of poliovirus surveillance, 2024 was marked by multiple detections of VDPV2c in wastewater in several European countries. In France, the fortuitous discovery of VDPV3 in wastewater in French Guiana in June mobilized the LA IP, the only institute in France authorized to carry out this type of expertise. A 12-month surveillance program is underway, with the last detection of VDPV3 dating back to August. The LA Lyon was also mobilized to detect and monitor the excretion of a wild PV3 following exposure in an industrial setting. The NRC fulfilled its expert missions by participating in “crisis cells” in French Guiana and metropolitan France, and in the referral to the DGS of information on what to do in the event of poliovirus detection in wastewater.

Regarding parechoviruses, 147 infections were reported, the majority in children aged < 3 months. Eleven children (9 days - 1 year) presented with severe infections.

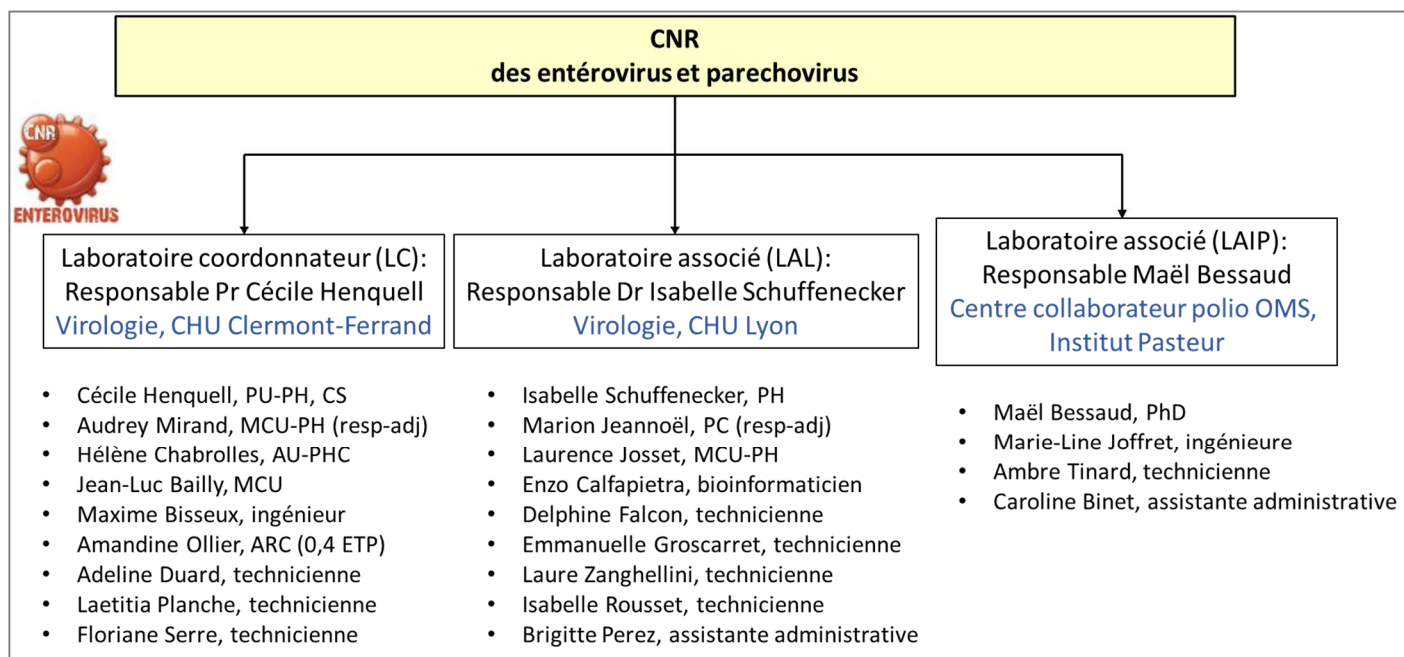
Lastly, some hospitals in French overseas departments participated more actively in the surveillance.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme

En 2024, les changements apportés au sein des laboratoires du CNR sont :

- Recrutement d'une technicienne, Floriane Serre (LC)
- Remplacement de Hadrien Règue par Enzo Calfapietra, bio-informaticien (LA Lyon)
- Remplacement de Pascale Bourret par Isabelle Rousset, technicienne (LA Lyon)



Evolution effective ou programmée en 2025 :

- Recrutement d'un ingénieur (Jérémy Lebeurre) au LA Lyon à partir du mois de Juillet
- La quotité de temps de travail de la responsable-adjointe du LA L a été réduite de 0,75 à 0,4 ETP
- Une ré-organisation de la répartition des correspondants du RSE entre le LC et le LA Lyon pour l'activité de génotypage des EV non poliomyélitiques et les parechovirus est envisagée.

Les organigrammes des 3 laboratoires sont repris en Annexe 1, ainsi que les locaux et équipements.

Mission et Organisation

Pour le mandat 2023-2027 du CNR des entérovirus et parechovirus (CNR EV-PeV), **trois laboratoires sont associés** : les laboratoires de Clermont-Ferrand et de Lyon poursuivent une collaboration et un partage de l'activité depuis 2012, et le laboratoire Centre collaborateur polio OMS de l'Institut Pasteur apporte son expérience sur la recherche de poliovirus dans les eaux usées et son expertise spécifique sur l'analyse des souches de poliovirus.

1. Pour l'activité concernant les entérovirus non poliomyélitiques et les parechovirus

La surveillance est organisée depuis 1996 autour du **Réseau de Surveillance des entérovirus (RSE)**, qui regroupe une quarantaine de laboratoires de CHU et CH en France métropolitaine transmettant au CNR les échantillons biologiques testés positifs en EV, EV/rhinovirus et HPeV pour identification moléculaire (génotypage) ainsi que les données cliniques associées via le site web dédié du CNR. Ce dispositif permet au CNR de fournir une épidémiologie précise des virus circulant en France métropolitaine, ainsi que des informations concernant la présentation clinique et la sévérité des infections associées.

Les deux laboratoires de Clermont-Ferrand et Lyon se partagent l'activité de génotypage, en ayant chacun des correspondants attirés dans les CHU et CH participant au RSE. En fonction de la taille de chaque établissement et du nombre d'échantillons traités, la répartition de l'activité peut être rediscutée en cas d'arrêt ou de nouvelle participation d'un centre, ou pour ré-équilibrer l'activité entre les deux centres. Une suppléance entre les deux laboratoires est possible pour les analyses d'expertise courante, avec une mise en commun d'approches techniques complémentaires en cas de difficulté technique ou de mise en place de nouveaux outils en cas d'émergence d'un type particulier (test PCR spécifique, fourniture de contrôles par exemple). En cas d'épidémie de grande ampleur, une collaboration et une répartition de l'activité serait envisagée de la même façon.

Pour le développement initié en 2023 de la surveillance dans les départements et régions d'Outre-Mer, une répartition de l'activité se fait également entre les deux laboratoires. Le laboratoire de Lyon est en charge de l'activité de Saint-Denis à la Réunion, de Papeete en Polynésie et de Nouméa en Nouvelle Calédonie, dans des collaborations ponctuelles établies de plus longue date. En 2024, le CHU de la Réunion a activement participé à la surveillance avec l'envoi de données épidémiologiques globales pour les LCS et l'envoi de plus de 300 selles pour le criblage polio à Lyon. Le laboratoire de Clermont-Ferrand a poursuivi ses contacts auprès des biologistes de Mayotte, Fort-de-France, Pointe-à-Pitre et Guyane, qui historiquement ne participaient au réseau.

Par ailleurs, le laboratoire de Clermont-Ferrand a mis en place en 2014 une **surveillance nationale communautaire des syndromes pied-main-bouche et de l'entérovirus A71 (EV-A71)** en s'appuyant sur le réseau de pédiatres libéraux de l'observatoire PARI. Les échantillons prélevés par les pédiatres sont tous envoyés et traités au CHU de Clermont-Ferrand.

2. Pour l'activité concernant spécifiquement les poliovirus

Les activités concernant les poliovirus nécessitent des autorisations MOT et sont réalisées par le LA L et le LA IP, qui sont membres du Réseau mondial des laboratoires polio. Ils sont accrédités pour différentes techniques de l'algorithme standard de détection de poliovirus :

Le LA L : isolement en culture cellulaire, différenciation intratypique ;

Le LA IP : isolement en culture cellulaire, différenciation intratypique, séquençage pour caractérisation génétique.

Les activités polio sont réparties comme suit au sein du CNR :

✓ **Le laboratoire de Lyon est en charge de la surveillance humaine de la poliomyélite en France Métropolitaine. Il réalise :**

- Le suivi de l'immunité anti-polio chez les salariés exposés aux poliovirus (titrage des anticorps neutralisants par séroneutralisation) ;
- L'investigation de tout cas clinique évocateur de poliomyélite survenant en France ou la confirmation de la détection d'un poliovirus dans un échantillon clinique humain, selon les recommandations de l'OMS : recherche de poliovirus dans les selles et, éventuellement d'autres prélèvements (écouvillonnages nasopharyngés par exemple) par isolement en cultures cellulaires, détection moléculaire et séquençage de la région génomique 1D.

✓ **Le laboratoire de l'Institut Pasteur est le laboratoire de référence pour le séquençage des poliovirus et la surveillance environnementale. Il réalise :**

- La recherche de poliovirus dans les échantillons d'eaux usées selon l'algorithme de l'OMS (isolement en culture cellulaire, détection moléculaire et séquençage de la région génomique 1D).
- La confirmation de la caractérisation génétique effectuée par le LA L en cas de détection de poliovirus

Cette répartition permet une orientation sans ambiguïté des échantillons à traiter. Elle n'empêche pas le partage d'informations entre les deux laboratoires qui reste la règle, notamment lors d'événements exceptionnels. La concertation entre les deux laboratoires et le LC est importante pour consolider les résultats et garantir la clarté des résultats rendus aux autorités nationales de santé et à l'OMS.

La procédure d'alerte est détaillée dans la Figure 31, Annexe 1.

Démarche Qualité

Les programmes qualité sont détaillés en Annexe 1, et les méthodes d'analyses en lien avec les activités du CNR sont indiquées dans les tableaux en Annexe 2.

1. Laboratoire de Virologie du CHU de Clermont-Ferrand

Le service de Virologie fait partie du Laboratoire de Biologie Médicale (LBM) du CHU de Clermont-Ferrand, qui est accrédité depuis le 1er août 2013 (N°8-3140) par le COFRAC selon la norme ISO15189. Les examens de détection des entérovirus (trousse Enterovirus R-gene™, bioMérieux) et des parechovirus (trousse Parechovirus r-gene™, bioMérieux) sont accrédités. L'accréditation du séquençage Sanger et NGS, initialement programmée en 2024, est repoussée à 2025.

Le Service de Virologie et le CNR s'appuient sur les processus supports de management de la qualité mis en place de façon transversale par le LBM du CHU. Conformément à la norme ISO15189, des contrôles de qualité internes et externes, des audits internes et un suivi d'indicateurs sont réalisés.

2. Laboratoire de Virologie du CHU de Lyon

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.

Le LA L est accrédité par l'OMS pour l'isolement des poliovirus en culture cellulaire et le typage moléculaire des poliovirus par RT-PCR. La technique spécifique de détection de l'EV-D68 par RT-PCR en temps réel (technique 'maison') et la technique de titrage des anticorps anti-poliovirus par séroneutralisation (technique OMS) sont accréditées selon la norme ISO 15189 depuis mai 2022.

3. Centre collaborateur polio OMS de l'Institut Pasteur

Le LA IP n'étant pas un laboratoire de diagnostic, il n'est pas accrédité par le COFRAC. La démarche qualité s'appuie sur l'ensemble des procédures mises en place par l'Institut Pasteur et notamment le Service qualité, le Service de préventions des risques et la Direction des systèmes d'informations. Il bénéficie en outre de l'appui du Centre de recherche clinique pour les démarches réglementaires concernant les projets impliquant du matériel humain (démarches éthiques et RGPD) et de la Direction juridique pour les aspects concernant le protocole de Nagoya.

Un système d'audits internes organisés régulièrement par le Service de prévention des risques permet de vérifier la conformité des pratiques du laboratoire avec la réglementation applicable au MOT.

Enfin, en tant que laboratoire expert du Réseau mondial des laboratoires polio de l'OMS, le LA IP est soumis à des tests de compétence annuels et à des audits annuels de la part des coordinateurs de ce réseau.

2. Activités d'expertise

Les activités d'expertise sont présentées en tenant compte de la configuration du CNR en 2024 :

- Laboratoire de Virologie du CHU de Clermont-Ferrand (laboratoire coordonnateur, LC)
- Laboratoire de Virologie du CHU de Lyon (laboratoire associé, LA L)
- Centre Collaborateur OMS Polio de l'institut Pasteur (laboratoire associé, LA IP)

Éléments clefs 2024

- 1. Investigation clinique et virologique de l'épidémie à EV-D68, ayant entraîné une augmentation significative du diagnostic spécifique des infections à EV-D68 et de l'activité de génotypage des EV**
- 2. Identification d'un PV3 Sabin-like chez un enfant ayant séjourné au Cameroun et d'un PV3 sauvage chez une salariée exposée au poliovirus en secteur industriel et excrété pendant plus de 3 mois.**
- 3. Mise en place des analyses de séro-neutralisation pour les EV non poliomyélitiques**

2.1. Evolution des techniques

2.1.1. Laboratoire coordonnateur – Clermont-Ferrand (LC)

✓ Séroneutralisation pour les entérovirus non poliomyélitiques

Le recrutement d'une technicienne supplémentaire en 2024 au sein du LC a permis 1/ de renforcer l'activité de culture cellulaire et les capacités d'isolement des souches, et 2/ de (re)mettre en place les analyses de séroneutralisation pouvant être intégrées dans la pratique courante.

Ceci a permis notamment le suivi des infections chroniques à EV chez des personnes immunodéprimées en évaluant les capacités neutralisantes du sérum du patient et des lots d'immunoglobulines standards (administrées pour tenter de traiter l'infection) vis-à-vis de la souche d'EV responsable de l'infection préalablement isolée. Elle permet également la réalisation d'études de séroprévalence concernant certains types d'EV d'intérêt (aucun test commercial disponible).

2.1.2. Laboratoire associé – Lyon (LA L)

✓ Optimisation du séquençage illumina des régions 1D

Le LA L a optimisé le séquençage Illumina sur amplicons poolés des régions 1D (codant pour la protéine VP1) et 1A-1B (codant pour les protéines VP4-VP2) pour le typage de routine des EV en miniaturisant les étapes de RT-PCR. Les techniciens du CNR ont été formés à l'interprétation technique des résultats.

✓ Mise en place du séquençage sur Minlon

Le LA L a mis en place le séquençage sur Minlon de la région codant pour la protéine VP1 à partir d'ARN extrait de prélèvement de selles ou de souche de PV (cf chapitre 3.2.2). Cette stratégie permet de confirmer le sous-typage par PCR dans un délai de 24-48h après isolement du virus (et répond à l'exigence de l'OMS d'un rendu du séquençage dans un délai inférieur à 8 jours).

2.1.3. Laboratoire associé – Institut Pasteur (LA IP)

Le LA IP a mis en place une technique de séquençage direct de la région VP1 des poliovirus à partir d'ARN extraits de selles humaines. Cette technique repose sur une série de deux amplifications utilisant des amorces génériques suivie d'un séquençage Nanopore [Shaw AG, Mampuela TK, Lofiko EL, Pratt C, Troman C, Bujaki E, O'Toole Á, Akello JO, Aziza AA, Lusamaki EK, Makangara JC, Akonga M, Lay Y, Nsunda B, White B, Jorgensen D, Pukuta E, Riziki Y, Rankin KE, Rambaut A, Ahuka-Mundeke S, Muyembe JJ, Martin J, Grassly NC, Mbala-Kingebeni P. *Sensitive poliovirus detection using nested PCR and nanopore sequencing: a prospective validation study. Nat Microbiol. 2023 Sep;8(9):1634-1640. doi: 10.1038/s41564-023-01453-4*]. La technique a été développée par le laboratoire polio du NIBSC au Royaume-Uni et est en cours d'évaluation au sein de réseau polio de l'OMS. Une formation d'une semaine a été organisée par le NIBSC, à laquelle ont participé deux membres du LA IP.

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

2.2.1. Evaluation de la performance des techniques de détection moléculaire des entérovirus utilisés par les laboratoires du RSE

Depuis 2008, le LA L 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 réalisé par le LA L. 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 2024, le panel d'échantillons (Tableau 1) a été distribué à 26 laboratoires (contre 33 en 2023) : 25 jeux de données complets ont été transmis par 21 laboratoires (contre 35 jeux de données de 29 laboratoires en 2023). Vingt-trois jeux de données ont été obtenus avec des trousse de RT-PCR temps réel commercialisées : Enterovirus R-GENE® (bioMérieux) : n=7; RealStar® Enterovirus (Altona Diagnostics) : n=6 ; Enterovirus ELITe MGB® (ELitech) : n=6 ; Bosphore Enterovirus kit® (Anatolia Genworks): n=1 ; Cepheid® Xpert EV (Cepheid) : n=1; Enterovirus primer pair (Diasorin) : n=1 ; RIDA®GENE Enterovirus (R-BioPharm) : n=1 ; Allplex® Meningitidis (Seegene) : n=1. Deux jeux de données ont été obtenus avec des techniques de RT-PCR temps réel maison.

Pour 92% (contre 70,6% en 2023) des jeux de données, la réponse était correcte sur les 10 échantillons du « core » (Figure 1). Le test Anatolia a échoué à détecter l'EV-D68 B3, le CV-A9 et l'E-30 (un seul jeu de données). La trousse Cepheid® Xpert EV a échoué à détecter l'EV-D68 B3 avec faible charge (un seul jeu de données), ce défaut de sensibilité de la trousse Cepheid étant connu depuis de nombreuses années mais d'impact clinique modéré (la trousse Cepheid étant principalement utilisé sur les LCRS).

Globalement, l'amélioration des performances du réseau est liée à l'abandon de la trousse Cepheid Xpert EV par la plupart des laboratoires du RSE, en lien avec l'arrêt prochain de la commercialisation de cette trousse.

On continue de regretter que les panels QCMD soient constitués d'échantillons strictement identiques (dans leur composition) d'une année sur l'autre. Une nouvelle demande a été faite auprès de QCMD pour le renouvellement des panels en 2025.

Tableau 1 - Contrôle de qualité externe QCMD EV : composition du panel EV 2024 et résultats obtenus par le RSE comparativement aux résultats globaux tous pays confondus

Sample code	Sample content	Detection frequency	Sample Status	Percentage correct (All participating labs)		Percentage correct (French labs)	
				(%)	(n)	(%)	(n)
EVRNA24S-01	Enterovirus A71	Freq detected	Core	97.1	140	96	24
EVRNA24S-02	Enterovirus D68/B3	Freq detected	Core	97.9	140	100	24
EVRNA24S-03	Echovirus 30	Freq detected	Core	96.4	140	96	24
EVRNA24S-04	Negative	Negative	Core	98.6	140	100	24
EVRNA24S-05	Coxsackievirus A24	Freq detected	Core	96.4	140	100	24
EVRNA24S-06	Echovirus 6	Freq detected	Core	97.9	140	100	24
EVRNA24S-07	Enterovirus D68/B3	Detected	Core	90	140	92	24
EVRNA24S-08	Echovirus 25	Freq detected	Core	99.3	140	100	24
EVRNA24S-09	Coxsackievirus A9	Freq detected	Core	95.7	140	96	24
EVRNA24S-10	Echovirus 18	Freq detected	Core	97.9	140	100	24

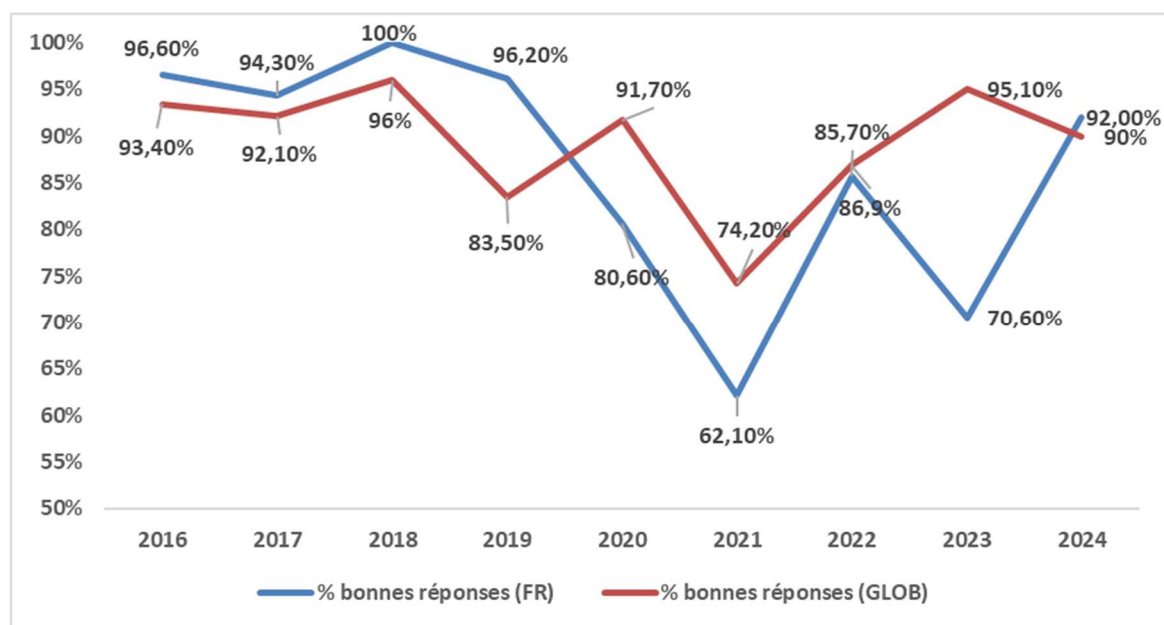


Figure 1. Performances obtenues par les laboratoires français et les laboratoires étrangers au contrôle de qualité externe QCMD Enterovirus, 2016-2024

(en % de jeux de données ayant attribué une réponse correcte pour les échantillons du « core »)

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

Depuis 2019, une EIL annuelle a été mise en place entre deux laboratoires du CNR (organisation alternée – LC et LA Lyon) pour l'évaluation comparative des techniques de détection et de typage pour le diagnostic des infections à EV-D68. Les techniques évaluées sont celles utilisées en pratique courante dans chaque laboratoire (Annexe 2).

En 2024, un panel de 6 échantillons comprenant : 1 EV-D68 de clade B3, 3 EV-D68 de clade D1 dont deux co-infections avec des rhinovirus (RV) C, et deux prélèvements négatifs en EV-D68 (dont 1 RV-C28 et 1 EV-C105) a été analysé. Les performances des méthodes évaluées sont bonnes et concordantes entre les deux laboratoires du CNR.

2.2.3 Evaluation inter-laboratoires pour le titrage des anticorps anti-poliovirus

Depuis 2018, une EIL est organisée entre le LAL et le laboratoire Biomnis. Depuis 2020, le laboratoire Pasteur-Cerba participe également à cet échange. Il consiste en l'envoi à tour de rôle d'un panel de 3 échantillons en Juin et Décembre par l'un des 3 laboratoires participants. La méthode de titrage et l'interprétation des résultats sont réalisés selon les recommandations de l'OMS.

Les résultats de cet EIL montrent une concordance des résultats entre les trois laboratoires.

2.2.4. Evaluation de trousse

✓ **Evaluation des performances de la trousse AltoStar® EV & RV & HPeV RT-PCR Kit 1.5 (Altona) pour la détection multiplex des entérovirus, rhinovirus et parechovirus (LC)**

Le LC a évalué les performances de la nouvelle trousse de PCR multiplex en temps réel AltoStar® EV & RV & HPeV RT-PCR Kit 1.5 de la société Altona par rapport à celles des trousse simplex Entérovirus R-gene®, Rhino&EV/Cc r-gene® et parechovirus r-gene® de la société bioMérieux. L'évaluation a été faite au CHU de Clermont-Ferrand en réalisant une extraction sur l'automate EasyMag (bioMérieux) et une amplification sur le thermocycleur RotorGene® Q pour l'ensemble des trousse. En parallèle, les mêmes échantillons (souches cliniques et EEQ) ont été envoyés au service de Virologie du CHU de Toulouse (Pr J Izopet) pour être testés avec la trousse Altona sur l'automate du fournisseur AltoStar®.

Les résultats globaux ont déjà été communiqués aux membres du RSE qui en ont fait la demande. Ils seront publiés prochainement et mis à disposition sur le site du CNR.

2.3. Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Le LC a transmis au Pr Anne Goffard (Molecular & Cellular Virology, Center for Infection and Immunity of Lille, Inserm U1019, CNRS UMR 9017, Univ. Lille Institut Pasteur de Lille) un protocole de cultures cellulaires et d'isolement viral sur cellules Véro, demandé dans le cadre d'un projet de recherche.

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 pour chaque laboratoire dans l'annexe 4.

La collection biologique est constituée de tous les échantillons biologiques contenant de l'ARN EV ou EV/rhinovirus ou HPeV transmis par les centres participant au RSE et des échantillons biologiques des deux laboratoires de CHU. Tous les acides

nucléiques issus de la détection par PCR sont également conservés. Depuis le début du mandat actuel (2023-2027), les collections de matériel biologique se sont enrichies d'échantillons cliniques prélevés en 2023-2024, positifs pour la recherche d'entérovirus, de parechovirus et de rhinovirus typés, et des concentrats des eaux usées collectées dans le cadre de la surveillance environnementale mise en place à Mayotte.

Depuis 2024, en parallèle de la caractérisation systématique du génome complet de souches récentes représentant différents types d'EV, le LC réalise une biothèque de ces souches en culture cellulaire.

Les échantillons de matériel biologique (nombre et nature) distribués par les laboratoires du CNR sont indiqués dans le Tableau 2.

Tableau 2 - Souches et échantillons cliniques distribués en 2024

Laboratoire coordonnateur				
Echantillons cliniques et gammes de dilutions de souches	Pr Jacques Izopet, CHU Toulouse	Echantillons positifs en EV, Rhinovirus et HPeV	10/2024	Comparaison inter-laboratoires des performances d'une trousse de RT-PCR multiplex EV et HPeV (Altona)
Souche clinique Echovirus 6	Pr Anne Goffard (CNRS UMR 9017, Univ. Lille, Institut Pasteur de Lille)	Souche titrée d'Echovirus 6	06/2024	Projet de recherche sur des matériaux antiviraux
Laboratoire associé Lyon				
Souches cliniques et de référence d'EV et RV	Dr Sylvie Gonzalo, Virologie, CHU St Etienne	2 souches cliniques (E11, EV-A71) et 2 souches de référence (EV-D68 et HRV-A2) (1 ml pour chaque souche)	30/05/2024	Evaluation technique diagnostique RIDA® GENE Enterovirus (R-BioPharm)
Souche Clinique d'EV	Dr Grégory Destras, plateforme GENEPII, CHU de Lyon	1 ml de souche clinique d'E11	01/07/2024	Témoin positif pour validation de méthode du séquençage par approche métatranscriptomique
Souches cliniques de poliovirus	Dr Maël Bessaud, Institut Pasteur, Paris	8 souches cliniques de poliovirus sauvage de type 3	13/09/2024	Séquençage du génome complet pour étude de l'évolution moléculaire d'une souche excrétée par une salariée exposée en secteur industriel
Echantillons cliniques	Jennifer Servanin, Eurofins, Lyon 07 ; Bénédicte Roquebert, Pasteur-Cerba, St Ouen	3 serums avec titre connu en Ac anti-PV1	10/12/2024	EIL (Sérologie polio)

2.5. Activités d'expertises

2.5.1. Recherche et identification des entérovirus

Génotypage des entérovirus

Le typage moléculaire des EV a été réalisé par le LC et le LA L du CNR selon une répartition prédéfinie (attribution à chacun d'un réseau de laboratoires correspondants). En 2024, le LA L a connu une **importante augmentation d'activité** (+25% échantillons testés) issue principalement de l'intensification de la collaboration avec le CHU de la Réunion ainsi que de 2 laboratoires partenaires de longue date du RSE (Bordeaux : x4 ; Brest : +40%), en lien avec l'alerte EV-D68 lancée par le CNR à l'intention des membres du réseau et une épidémie de méningite précoce et importante à E9 au CHU de Brest (cf Tableau 4b). La répartition du réseau de laboratoires correspondants sera revue en 2025 pour mieux répartir l'activité entre les 2 laboratoires.

Tableau 3 - Activité de génotypage et répartition entre les deux laboratoires du CNR

	Echantillons reçus	Echantillons testés	Patients testés ¹	Patients avec EV et/ou HRV ²	Patients avec EV typé	Patients avec RV typé	Délai médian rendu résultat (jours)
Total CNR 2024	3416	2958	2766	2535 (91,6%)	2266	323	
LC Clermont-Fd	1195	1144	1041	938 (90,1%)	864	83	9
LA Lyon	2221	1814	1725	1597 (92,6%)	1402	240	

¹ 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.

² Le génotypage peut conduire à l'identification d'un EV, d'un RV ou d'une co-infection.

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).

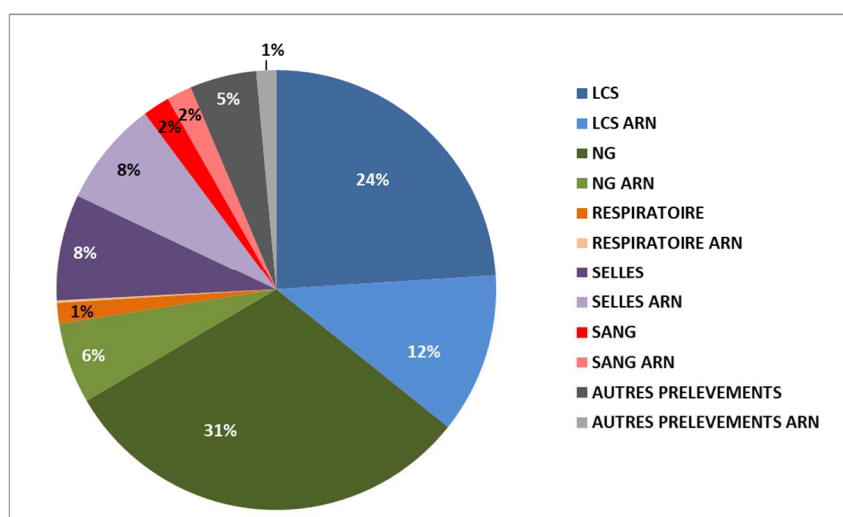


Figure 2. Nature des échantillons analysés en 2024

Performance du typage

En 2024, **2958 échantillons cliniques, correspondant à 2766 dossiers patients**, ont été analysés. Cette activité a augmenté de 18 %, principalement du fait de l'investigation de l'épidémie à EV-D68.

La performance globale du génotypage des EV, soit la proportion de dossiers patients analysés avec identification, est similaire par rapport aux années antérieures avec **91,6% de dossiers patients avec identification**.

Tableau 4a - Echantillons analysés par le LC – 2024

Dpt	Origine géographique	Echantillons reçus	Echantillons testés	Patients testés	Patients avec EV/RV typés	Patients typés EV	Patients typés RV
3	CH Montluçon / Moulins / Vichy	10	10	10	9 (90%)	11	0
6	CH Antibes	13	13	13	12 (92,3%)	11	1
10	CH Troyes	1	1	1	1 (100%)	1	0
12	CH Rodez	7	5	2	2 (100%)	2	0
25	CHU Besançon	16	16	16	16 (100%)	14	2
31	CHU Toulouse	255	226	174	125 (71,8%)	101	27
35	CHU Rennes	38	38	34	33 (97,1%)	32	1
43	CH Le Puy	16	14	12	11 (91,7%)	9	2
45	CH Montargis	2	2	2	2 (100%)	2	0
45	CH Orléans	77	75	75	67 (89,3%)	65	2
46	CH Cahors	1	1	1	1 (100%)	1	0
50	CH Avranches	3	3	1	1 (100%)	1	0
51	CHU Reims	2	2	1	0	1	0
56	CH Vannes	21	21	21	17 (81%)	14	3
58	CH Nevers	4	4	4	4 (100%)	4	0
63	Centre Azuriane / Centre Jean Perrin/Laboratoire privé Genbio	7	6	6	5 (88,9%)	4	0
63	CHU Clermont-Ferrand	202	195	173	159 (91,9%)	149	10
64	CH Bayonne	2	2	2	2 (100%)	1	1
67	CH Seles	3	3	3	3 (100%)	3	0
75	AP-HP Cochin	82	80	78	74 (94,9%)	66	8
75	AP-HP Bichat	3	3	3	3 (100%)	3	0
78	CH Versailles	136	134	132	129 (97,7%)	123	7
78	CH Mantes La Jolie	10	10	10	10 (100%)	10	0
80	CHU Amiens	42	41	30	28 (93,3%)	26	4
82	CH Montauban	4	4	3	2 (66,7%)	1	1
83	CH Frejus	5	5	5	4 (80%)	4	0
93	AP-HP Avicenne / Jean Verdier	25	25	24	23 (97,8%)	21	3
95	Laboratoire NOVO / CERBA	5	5	5	4 (87,5%)	4	0
95	AP-HP Gonesse	10	10	10	10 (100%)	10	0
97	CH Mayotte	15	15	15	15 (100%)	15	0
97	CHU Guadeloupe	6	5	5	4 (80%)	3	1
Sous Total		1023	974	871	777 (89,2%)	713	73
Réseau Ambulatoire PMB		172	170	170	161 (94,7%)	151	10
Total LC – Clermont-Fd		1195	1144	1041	938 (90,1%)	864	83

Commentaire LC : activité stable de génotypage des EV.

Tableau 4b - Echantillons analysés par le LA L – 2024

Dpt	Origine géographique	Plvts reçus	Plvts testés	Patients testés	Patients typés	Patients typés EV	Patients typés RV
1	CH BOURG EN BRESSE	2	2	2	2	2	
6	CH GRASSE	12	7	5	8	5	2
6	CHU NICE	66	9	9	9	9	
8	CH CHARLEVILLE MEZIERES	1	1	1	1	1	
10	CH TROYES	3	3	2	2	1	1
13	CH AIX EN PROVENCE	2	2	2	2	2	1
14	CHU CAEN	91	84	80	74	63	19
21	CHU DIJON	49	42	36	36	28	10
26	CH VALENCE	1	1	1	1	1	
29	CHU BREST	396	247	233	222	195	36
33	CHU BORDEAUX	252	242	240	231	226	6
34	CHU MONTPELLIER	35	9	9	9	9	
38	CH BOURGOIN JALLIEU	5	5	5	5	4	1
38	CHU GRENOBLE	51	46	42	37	22	16
38	CH VIENNE	12	11	11	9	9	
39	CH LONS LE SAUNIER	1	1	1	1		1
42	CH ROANNE	11	11	11	9	4	5
42	CHU ST ETIENNE	86	70	60	55	49	8
49	CHU ANGERS	64	59	59	53	52	1
59	CH DUNKERQUE /VALENCIENNE	2	2	2	2	2	
59	CHU LILLE	130	118	116	105	95	14
62	CH ARRAS/BOULOGNE CALAIS/LENS/ST OMER	24	24	24	24	24	
67	CHU STRASBOURG	57	53	51	40	39	1
69	CHU LYON	288	252	234	216	203	17
69	CH VILLEFRANCHE	7	5	5	4	4	
71	CH MACON	1	1	1	1	1	
72	CH LE MANS	18	18	18	18	18	
74	CH ALPES LEMAN	5	4	3	3	3	
75	APHP NECKER	123	99	91	88	68	23
75	APHP SALPETRIERE	3	3	1	1	1	
75	APHP ST ANTOINE	69	63	60	59	55	6
75	APHP ST LOUIS	28	5	4	4	4	
76	CHU ROUEN	204	198	192	171	124	55
82	CH MONTAUBAN	2	1	1	1	1	
83	CHI FREJUS	3	1	1	1	1	
83	CHI TOULON	25	24	24	23	22	1
86	CHU POITIERS	4	4	1	1	1	1
89	CH AUXERRE	9	8	8	8	7	1
90	CH BELFORT	1	1	1	1	1	
91	CH SUD ESSONNE	1	1	1	1	1	
94	APHP P BROUSSE	3	3	3	3	2	1
97	CHU de la Réunion	64	64	64	46	37	9
97	LBM Médipole Dumbea	6	6	6	6	4	2
97	CH Papeete	4	4	4	4	2	2
Total LA - Lyon		2221	1814	1725	1597 (92,6%)	1402	240

Diagnostic des infections à EV-D68

Modalités du diagnostic des infections à EV-D68 en 2024

Suite à la détection inhabituellement précoce d'infections à EV-D68, un message d'alerte a été envoyé au RSE mi-septembre pour re-sensibiliser les membres du réseau à la détection des atteintes neurologiques sévères et réaliser une surveillance renforcée pour évaluer l'ampleur de l'épidémie. De nombreux laboratoires ont participé à cette surveillance, démontrant la capacité de mobilisation du RSE en réponse à un phénomène épidémique inhabituel. L'activité de diagnostic a donc fortement augmenté (+145%) comparativement aux années précédentes, y compris celles pour lesquelles une circulation accrue d'EV-D68 avait été détectée (en 2014, 2016 et 2018) et en conséquence l'activité de génotypage pour caractérisation des souches d'EV-D68 a également fortement augmenté.

En 2024, la recherche des infections à EV-D68 a consisté en :

- **Au CHU Clermont-Fd** : Recherche des RV-EV dans les échantillons respiratoires et génotypage des prélèvements respiratoires détectés positifs en EV/rhinovirus chez les patients hospitalisés, sans condition d'âge, toute l'année, lorsque la recherche de SARS-CoV-2, Grippe et VRS est négative. Ce génotypage prospectif systématique des entérovirus et rhinovirus détectés dans les tableaux respiratoires a permis de mettre en évidence une augmentation de la circulation de l'EV-D68 dès le mois de juillet. Entre juillet et novembre 2024, du fait d'un changement de technique pour le diagnostic des infections à RV-EV, cette surveillance a été réalisée par la réalisation de la PCR EV-D68 spécifique sur tous les prélèvements respiratoires (infections respiratoires et autres), lorsque la recherche de SARS-CoV-2 était négative.

- **Au CHU Lyon** : recherche 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 septembre et novembre.

- **RSE** : 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. Dans le cadre de la surveillance renforcée, certains laboratoires ont mis en place la PCR spécifique EV-D68 ou transmis des échantillons respiratoires sans qu'ils soient associés à des atteintes sévères.

- Identification de cas dans le cadre de l'activité de **typage moléculaire non ciblée des infections à EV**.

Tableau 5 - Echantillons analysés pour le diagnostic des infections à EV-D68 en 2024

	Echantillons reçus	Patients testés	Infection à EV-D68	
Total CNR 2024	3856	3560	637	
LC Clermont-Fd	1843	1804	226	<i>Activité de diagnostic des infections à EV-D68 (+250%)</i>
LA Lyon	2013	1756	411	<i>Activité de diagnostic des infections à EV-D68 (+66%)</i>

Caractérisation moléculaire des souches d'entérovirus D68

Tableau 6 - Echantillons analysés pour le sous-typage des entérovirus D68

	Echantillons testés	Patients testés	EV-D68 avec sous-typage
Total CNR 2024	654	648	620
LC Clermont-Fd	220	220	212 (96,3%)
LA Lyon	434	428	408 (95,3%)

⇒ **Augmentation d'activité pour les 2 laboratoires du CNR en lien avec l'alerte EV-D68 : 654 patients testés contre 54 en 2023**

Tableau 7 - Provenance des échantillons analysés pour le diagnostic des infections à EV-D68 (LC et LA L)

Dpt	Origine géographique	Echantillons testés	Patients testés	Infection à EV-D68
LC Clermont-Fd				
3	CH Moulins / Vichy	5	5	1
6	CH Antibes	1	1	0
10	CH Troyes	1	1	0
25	CHU Besançon	1	1	1
35	CHU Rennes	9	3	7
43	CH Le Puy	14	14	0
45	CH Orléans	154	154	50
56	CH Vannes	12	12	3
63	Centre Jean Perrin	34	31	2
63	CHU Clermont-Ferrand (LC)	1284	1259	91
64	CH Bayonne	2	1	1
75	AP-HP Cochin	198	196	13
78	CH Versailles	34	32	28
80	CHU Amiens	70	70	5
82	CH Montargis	3	3	0
83	CH Frejus	1	1	0
93	AP-HP Avicenne	7	7	1
95	Laboratoire CERBA	4	4	0
97	CH Mayotte	8	8	0
97	CHU Guadeloupe	1	1	0
Total		1843	1804	203
LA Lyon				
1	CH et TGI BOURG EN BRESSE	7	5	1
6	CHU NICE/ CH GRASSE	67	65	9
14	CHU CAEN	14	12	2
21	CHU DIJON	1	1	0
29	CHU BREST	119	117	47
33	CHU BORDEAUX	165	164	157
34	CHU MONTPELLIER	35	34	11
38	CH BOURGOIN/CH VIENNE	9	9	0
38	CHU GRENOBLE	9	9	4
39	CH LONS	1	1	0
42	CH ROANNE	7	7	1
42	CHU SAINT-ETIENNE	6	5	2
59	CHU LILLE	62	62	47
62	CH ARRAS/CALAIS/LENS	3	3	3
67	CHU STRASBOURG	5	5	5
69	CHU LYON	1402	1156	91
69	CH VILLEFRANCHE	5	5	0
75	APHP NECKER	42	42	13
75	APHP ST LOUIS	27	27	3
76	CHU ROUEN	22	22	11
97	CHU la Réunion	5	5	4
Total		2013	1756	411

2.5.2. Recherche et identification des parechovirus

Diagnostic des infections à parechovirus

Remarque préliminaire : Les stratégies de diagnostic des infections neuroméningées (qui dépassent la seule recherche des parechovirus) instaurées dans les 2 laboratoires du CNR expliquent la différence de nombre de recherches de parechovirus et le pourcentage de positivité entre les 2 laboratoires. Cependant, dans les 2 laboratoires, les indications cliniques et les échantillons testés pour la recherche des parechovirus sont similaires.

En 2024, le CNR EV-PeV a analysé 3445 échantillons prélevés chez 3219 patients (Tableaux 8 et 10), selon les modalités suivantes :

- **Pour les patients du CHU de Clermont-Ferrand** : recherche systématique chez les enfants de moins de 1 an hospitalisés pour bilan de fièvre et suspicion d'infection neuro-méningée (LCS et sang), et quel que soit l'âge dans le bilan des atteintes neurologique sévères (LCS). Le test Parechovirus R-Gene® (bioMérieux) est utilisé.
- **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 sur tous les échantillons sanguins des enfants de moins de 3 mois par la technique Parechovirus R-gene®
- Pour tous les patients dont les échantillons ont été adressés au CNR par les laboratoires du **RSE ou d'autres laboratoires ne réalisant pas ce diagnostic.**

Tableau 8 - Activité de diagnostic des infections à parechovirus, 2024

	Echantillons testés	Patients testés	Echantillons positifs	Patients avec infection HPeV	Délai médian rendu résultat (jours)
Total CNR 2024	3445	3219	35	34	-
LC Clermont-Fd	274	230	14	13 (5,6%)	5 (0-15)
LA Lyon	3171	2989	21	21 (0,7%)	4 (0-10)

Génotypage des parechovirus

En 2024, le génotypage des parechovirus, réalisé par le LC et le LAL, a été possible pour 120 (96,7%) des dossiers analysés (tableaux 9 et 11).

Les échecs de typage correspondaient à des LCS détectés positifs en PCR multiplex avec le test FilmArray® (bioMérieux), avec une charge virale probablement faible.

Tableau 9 - Activité de génotypage des parechovirus, 2024

	Echantillons testés	Patients testés	Patients avec PeV typé	Délai médian rendu résultat (jours)
Total CNR 2024	136	124	120 (96,7%)	-
LC Clermont-Fd	46	42	40 (95,2%)	9 (1-36)
LA Lyon	90	82	80 (97,6%)	15 (6-32)

Tableau 10 - Provenance des échantillons analysés pour le diagnostic des infections à parechovirus, 2024

Dpt	Origine géographique	Echantillons testés	Patients testés	Echantillons positifs	Patients avec infection PeV
LC Clermont-Fd					
63	CHU Clermont-Ferrand	236	201	5	4
3	CH Vichy	1	1	0	0
6	CH Antibes	1	1	0	0
6	CH Cannes	0	0	0	0
15	CH Aurillac	1	1	0	0
25	CHU Besançon	3	2	2	2
31	CHU Toulouse	5	4	3	3
33	CH Libourne	0	0	0	0
35	CHU Rennes	0	0	0	0
43	CH Le Puy	11	8	2	2
45	CH Montargis	1	1	1	1
45	CH Orléans	2	2	0	0
58	CH Nevers	0	0	0	0
59	CH Valenciennes	0	0	0	0
63	CH Tiers	1	1	0	0
75	AP-HP Cochin	2	1	0	0
78	CH Versailles	0	0	0	0
80	CHU Amiens	3	2	1	1
82	CH Montargis	2	2	0	0
83	CH Frejus	2	1	0	0
92	CH Rives de Seine	3	2	0	0
Total		274	230	14	13
LA Lyon					
1	CH et TGI BOURG EN BRESSE	12	12	0	0
26	CH ROMANS	8	6	0	0
26	CH VALENCE	14	14	0	0
38	CH BOURGOIN	15	15	0	0
38	CHU GRENOBLE	1	1	1	1
38	CH VIENNE	106	100	1	1
69	CHU et TGI LYON	2954	2780	19	19
69	CH VILLEFRANCHE SUR SAONE	60	60	0	0
71	CH CHALON SUR SAONE	1	1	0	0
Total		3171	2989	21	21

Tableau 11 - Provenance des échantillons analysés pour le génotypage des parechovirus, 2024

Dpt	Origine géographique	Echantillons testés	Patients testés	Patients avec PeV typé	Types PeV (n)
LC Clermont-Fd					
63	CHU Clermont-Ferrand	5	4	4	HPeV-3 (3) ; HPeV-5 (2)
45	CH Orléans	6	6	6	HPeV-3 (6)
6	CH Cannes	1	1	1	HPeV-3
25	CHU Besançon	2	2	2	HPeV-3 (1) ; HPeV-4 (1)
31	CHU Toulouse	11	8	6	HPeV-3 (3) ; HPeV-5 (1) ; HPeV-1 (1) ; Non typable (1)
33	CH Libourne	1	1	1	HPeV-3
35	CHU Rennes	2	2	2	HPeV-3 (1) ; HPeV-5 (1)
43	CH Le Puy	2	2	2	HPeV-3 (1) ; HPeV-5 (1)
45	CH Montargis	1	1	1	HPeV-3
58	CH Nevers	1	1	1	HPeV-3
59	CH Valenciennes	1	1	1	HPeV-3
78	CH Versailles	8	8	8	HPeV-3 (7) ; HPeV-4 (1)
80	CHU Amiens	5	5	5	HPeV-3 (5)
Total		46	42	40 (95,2%)	
LA Lyon					
14	CHU CAEN	2	2	2	HPeV-3 (2)
17	CH LA ROCHELLE	3	3	3	HPeV-3 (3)
21	CHU DIJON	6	4	4	HPeV-3 (3), HPeV-5 (1)
26	CH VALENCE	7	4	4	HPeV-3 (2), HPeV-4 (1), HPeV-5 (1)
29	CHU BREST	2	2	2	HPeV-3 (2)
33	CH LIBOURNE	3	3	3	HPeV-3 (3)
37	CHU TOURS	2	2	2	HPeV-3 (2)
38	CHU GRENOBLE	5	5	5	HPeV-3 (4), HPeV-5 (1)
38	CH VIENNE	1	1	1	HPeV-3 (1)
41	CH BLOIS	2	2	2	HPeV-3 (2)
42	CH ROANNE	3	3	3	HPeV-3 (3)
42	CHU SAINT ETIENNE	4	4	4	HPeV-3 (1), HPeV-4 (1), HPeV-5 (2)
49	CHU ANGERS	2	1	1	HPeV-3 (1)
59	CHU LILLE	7	7	7	HPeV-1 (1), HPeV-3 (4), HPeV-5 (1), HPeV-6 (1)
59	CH ROUBAIX	2	2	2	HPeV-3 (2)
60	CH BEAUVAIS	1	1	1	HPeV-5 (1)
62	CH CALAIS	1	1	1	HPeV-3 (1)
67	CH HAGUENAU	1	1	1	HPeV-3 (1)
69	CHU LYON	19	19	19	HPeV-3 (17), HPeV-5 (2)
74	CH ALPES LEMAN	1	1	1	HPeV-3 (1)
75	APHP ROBERT DEBRE	1	1	1	HPeV-3 (1)
75	APHP SAINT ANTOINE	9	7	7	HPeV-1 (4), HPeV-3 (1), HPeV-4 (1), HPeV-5 (1)
76	CHU ROUEN	3	3	1	HPeV-3 (1), non typable (2)
83	CH TOULON	2	2	2	HPeV-3 (1), HPeV-5 (1)
94	APHP BECLERE	1	1	1	HPeV-3 (1)
Total		90	82	80 (97,6%)	

2.5.3. Activité de séroneutralisation des EV non polio-myélitiques

En 2024, la mise au point et la mise en place de la séroneutralisation pour les EV non-poliomyélitiques a permis l'évaluation de l'activité neutralisante anti-CV-A24 de plusieurs lots d'immunoglobulines et de serum d'un patient immunodéprimé et de son entourage dans un contexte de gastro-entérite chronique sévère associé à un CV-A24 non variant, type rare en France métropolitaine.

La séroneutralisation a été évaluée sur 3 selles collectées entre novembre 2023 et septembre 2024 avec 4 serum du patient immunodéprimé (à différents temps), 2 lots d'immunoglobulines administrées et le serum de 4 personnes de son entourage.

2.6. Activités de séquençage

Aucune sélection des isolats n'est réalisée *a priori* par le CNR et le degré d'exhaustivité est de 65-75% des infections à EV déclarées par le RSE.

Séquençage CNR EV-HPeV

- Le séquençage des isolats d'EV, HPeV et rhinovirus issus de la surveillance humaine est réalisé par le LC et le LA L. Le LA IP réalise le séquençage des PV et EV issus de la surveillance environnementale, et apporte son expertise dans l'analyse des mélanges complexes de souches de PV.
- Tous les échantillons (cliniques ou acides nucléiques) reçus au CNR pour des cas cliniques sévères sont séquencés pour identification de la souche EV ou HPeV détectée par PCR dans l'échantillon clinique. Pour les cas non sévères, le typage est ciblé sur le LCS et le sang et/ou échantillons à forte charge virale.
- Echantillons EV ou HPeV séquencés en 2024 par séquençage Sanger : n=2222 ; par NGS (génomome partiel) : n=1067 ; par NGS (génomome complet) : n=143.
- Les résultats du génotypage et les séquences produites à partir des échantillons cliniques sont mis à disposition des biologistes qui les ont envoyés. Une partie des séquences est également mise à disposition de la communauté scientifique en les publiant sur GenBank.
- Equipement : plateformes de séquençage NGS (génomome partiel ou génomome complet) sur les 3 sites ; séquençage rapide (réponse en 48-72h) par séquençage génomique partiel en technique Sanger ou complet en technique Nanopore (MinION)
- Analyse bioinformatique et capacité de stockage des données produites sur chacun des 3 sites
- Expertise d'analyses moléculaires dans les 3 laboratoires (bases de données de séquences, analyses phylogénétiques).

2.6.1. Laboratoire coordonnateur - Clermont-Ferrand

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	1/ Interne au CNR (équipement de séquençage du laboratoire de Virologie) ; 2/ Et plateforme de séquençage NGS du CHU de Clermont-Ferrand
	1/ Interne au CNR : Séquençage Sanger (séquenceur 3500Dx) et Séquençage Nanopore (1 automate d'extraction MGI 2*96 puits, 1 Mk1C Nanopore, 1 Viaflow automate de pipetage 96 puits) 2/ Plateforme NGS du CHU : Séquençage Illumina (3 MiSeq, 1 NextSeq, 2 Qubit) et séquençage Nanopore dans le CNR

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Accès interne et externe disponibles. L'ingénieur du CNR et un bio-informaticien en support (plateforme de séquençage du CHU) permettent l'analyse des données. Ressources : en interne, serveur d'analyse 8 cœurs pour la pratique courante ; et si besoin, accès à 720 cœurs physiques, 6 To de RAM répartis sur 42 nœuds de calcul (Mésocentre de l'université Clermont-Auvergne). Script d'analyses utilisant des outils open source (Flye, Medaka, Porechop, Filtrlong, samtools, SPAdes, bwa mem, bcftools, GATK)

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Une surveillance moléculaire des virus épidémiques EV-A71 et EV-D68 est réalisée en continu afin d'étudier leur évolution génétique.

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)

Les analyses bio-informatiques conduites dépendent de la souche considérée et de la problématique explorée. Dans tous les cas, une analyse des mutations sur le génome complet (wgMLST), une prédiction du genotype et du sous-genotype (MegaX), une analyse phylogénétique (MegaX) et une analyse de recombinaison (SimPlot) sont menées.
En cas de recombinaison, une recherche des souches parentales (SimPlot, par séquençage de souches de la même espèce en co-circulation), une datation des événements de recombinaison (Beast) et une prédiction des structures secondaires des régions non codantes sont menées.
Une analyse phylogéographique peut être menée de façon à analyser la diffusion de souches en France, en Europe et dans le monde, et de identifier leur origine.

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

- Epidémie de conjonctivite hémorragique Mayotte : n=34 (dont 18 génomes complets)
- Epidémie d'infections à EV-D68 France métropolitaine : n=212 s (dont 37 génomes complets)

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

En 2024, Sanger (séquençage génomique partiel) : n= 1807 (981 entérovirus, 41 parechovirus, 785 Rhinovirus)

En 2024, NGS (génomes complets) = 139 dont 54 EV-A, 30 EV-B, 18 EV-C et 37 EV-D68

Séquençage Sanger : aucune sélection (toutes les souches sont séquençées) ;

Séquençage NGS : sélection selon le type de virus (types rares par exemple), le contexte épidémiologique (épidémie) ou selon études en cours sur l'évolution génétique et la diffusion des souches en France et/ou en Europe.

En 2024 : Dans le cadre de la surveillance de l'EV-A71, des souches d'EV-A71 (n=26) ont été séquençées pour certains pays européens (étude ENPEN) ainsi que d'autres souches de l'espèce A pour rechercher les partenaires de recombinaison notamment (n=28). Parmi les EV-C, des souches de CVA24 variant ont été séquençées dans le cadre d'une épidémie de conjonctivites hémorragiques à Mayotte. Des séquences des souches d'EV-D68 (n=37) ont également été obtenues dans le cadre de l'épidémie survenue en 2024.

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

Dans les bases de données fermées : Les séquences partielles issues du séquençage Sanger sont stockées en interne et disponibles sur demande. Elles sont partagées systématiquement avec les biologistes de chaque centre ayant envoyé les échantillons à génotyper. En fonction de leur intérêt (type rare, épidémie, ...), elles peuvent être déposées dans Genbank. Elles le sont systématiquement en cas de publication scientifique.

Dans des bases de données publiques : Les génomes complets assemblés sont déposés dans la base de données publiques Genbank et disponibles pour tous, avec les métadonnées associées.

2.6.2. Laboratoire associé (Lyon)

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	- Sanger : accès à une plateforme externe (Microsynth, Vaulx-en-Velin) - Séquençage à haut débit : accès à une plateforme interne (GenEPII, Centre de Biologie Nord (CBN), Hôpital de la Croix-Rousse)
	Externe : ABI 3730XL Interne : 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))

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	- Accès interne : séquences analysées par les techniciens et biologistes du CNR avec le support des 3 ingénieurs bio-informaticiens de la plateforme GenEPII pour l'analyse des données. - Accès externe : 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
	Outils disponibles pour l'analyse : SeqMet (pipeline développé en interne pour l'analyse des données NGS) ; Lasergene (v17), BLAST (open source), MEGA 11, Simplot Capacité stockage avec sauvegarde quotidienne : 500 To Capacité d'analyse (serveurs GenEPII) : 2x36 cœurs pour l'analyse des données NGS de routine par le pipeline SeqMet; 193 cœurs pour des analyses spécialisées (caractérisation de variants, phylodynamie, etc...)

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	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 (suivi de l'évolution moléculaire).
	Sanger : Le séquençage Sanger est réalisé pour le typage des cas sévères car il permet d'obtenir des résultats avec un délai de réponse court (délai d'obtention de séquences post-PCR : 24 heures) Séquençage à haut débit : Depuis 2023, le séquençage haut débit est utilisé en première intention au CHU de Lyon pour le typage de routine des EV, HPeV et Rhinovirus (séquençage partiel de régions génomiques ciblées). Réalisation d'une série par semaine (3 PCR de typage ciblant les régions codant pour les protéines VP1 et VP4-VP2 sont réalisées systématiquement sur les prélèvements et poolées avant séquençage).

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)

Sanger : 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 11 pour l'analyse phylogénétique simple des séquences
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 HPEV 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)

Séquençage à haut débit : Le traitement des séquences NGS Illumina fait appel au pipeline SeqMet développé en interne. L'identification des EV, HPeV et Rhinovirus est réalisée par analyse Blast des séquences consensus versus la base de séquences RVDB. Les analyses phylogénétiques sont réalisées : 1/ pour les séquences de rhinovirus ; 2/ sur les souches d'EV et de HPEV 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).

Des analyses phylogénétiques Bayésiennes sont occasionnellement réalisées avec l'appui de ressources extérieures

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).

L'investigation de l'épidémie d'infections à EV-D68 a été réalisée en séquençage Sanger et a permis l'identification de 381 souches d'EV-D68.

En 2024, les génomes complets de 10 souches d'EV-D68 ont été séquencés dans le cadre de l'investigation de l'épidémie d'EV-D68 à l'automne.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Sanger
N=329 souches (189 entérovirus (hors EV-D68), 78 rhinovirus, 62 parechovirus)

Séquençage à haut débit:
N=981 souches (854 entérovirus (dont 51 EV-D68), 127 rhinovirus)

Génome complet :
A des fins de surveillance, le séquençage du génome complet d'EV a été réalisé pour 4 souches recombinantes

Sanger/NGS :
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. Pour les cas non sévères, sont privilégiés les échantillons de LCS et sang et les échantillons ayant la plus forte charge virale.
Génomes complets : sélection de souches associées à des infections sévères et/ou de types rares

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

Dans les bases de données fermées : Toutes les séquences brutes et les génomes assemblés sont stockés chronologiquement sur un espace informatique sécurisé et sauvegardé quotidiennement. Elles constituent une banque de séquences utilisables pour des analyses ciblées en lien avec la survenue d'épidémies ou l'émergence de nouveaux variants. Depuis 2018, les séquences générées dans la cadre de la surveillance des infections à EV et HPEV 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. Depuis janvier 2024, toutes les séquences générées par le LA sont mises à disposition sur ce site web.

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : Certaines séquences sont rendues publiques (GenBank) lorsqu'elles ont fait l'objet de publications

2.6.3. Laboratoire associé (Institut Pasteur)

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>1/ Sanger : -- Accès à une plateforme interne détenant les autorisations MOT pour le poliovirus Accès à une plateforme externe (Eurofins, Cologne).</p> <p>2/ Séquençage à haut-débit : Accès à la plateforme interne P2M dédiée aux activités de santé publique autorisée à séquencer du matériel génétique de poliovirus Accès à la plateforme interne OMICS disposant d'une batterie d'appareils divers.</p> <p>Sanger : ABI 3500 XL Genetic Analyzer Séquençage à haut-débit : Illumina, Minion, PacBio, IonTorrent</p>

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Equipe de bio-informaticiens de l'Institut Pasteur qui peuvent être sollicités pour des besoins ponctuels ou des projets. Pas de sollicitation en 2023.</p> <p>CodonCode Aligner, CLC Main WorkBench, CLC Genomics, MEGA X, SimPlot</p>

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?	
<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Identification d'entérovirus dans des échantillons cliniques et environnementaux. Caractérisation de poliovirus issus de la surveillance coordonnée par l'OMS</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)

Typage basé sur la séquence de la capside
Recherche de marqueurs de réversion phénotypique dans les génomes de poliovirus
Recherche de liens génétiques entre les souches de poliovirus
Analyses phylogénétiques sur les entérovirus séquencés
Analyses des événements de recombinaison entre entérovirus.

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

Caractérisation de souches de poliovirus basée sur la séquence VP1, selon l'algorithme de l'OMS et recherche de liens génétiques entre les souches par identification de mutations communes.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

86 isolats de poliovirus séquencés dans la VP1 (Sanger)
27 EV-G (Illumina, régions P1 et P2)
Plus de 100 génomes d'entérovirus A, B et C (Illumina, régions P1 et P2)

Aucune sélection

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

Dans les bases de données fermées : Les données brutes sont stockées sur des lecteurs dédiés du cluster de l'Institut Pasteur.

Les séquences de poliovirus issues de la surveillance sont transmises au Réseau mondial des laboratoires polio et intégrées à sa base de séquences.

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadata associées : GenBank



2.7. Partage de séquences produites par les CNR

Le partage national / international des séquences produites par le CNR EV-PeV se fait aujourd'hui *via* Genbank, base de référence pour les virus étudiés (130 000 séquences génomiques partielles ou complètes, et 11 000 génomes complets issus de NGS, en mars 2024). Il concerne notamment des séquences faisant l'objet de publications ou de séquences d'EV-A71 et EV-D68 faisant l'objet d'une surveillance longitudinale.

A ce jour, d'autres bases de données internationales ne sont pas ouvertes au dépôt des séquences génomiques des virus des genres *Enterovirus* et *Parechovirus*. Si à l'avenir par exemple la base GISAID élargie s'ouvrait aux entérovirus, le CNR participerait au partage des séquences *via* cette plateforme.

Les séquences génomiques déposées en 2024 ont les numéros d'accèsion suivants :

2.7.1. Laboratoire de Clermont-Ferrand

- PQ119797, PQ612439-PQ612465 : séquences EV-A (Illumina, génome complet)
- PQ612466-PQ612495 : EV-B (Illumina, génome complet)
- PP548237-PP548242 et PQ119595-PQ119796 : CVA24 variant (Nanopore, génome complet)
- PQ119791-PQ7119796 et PQ612435-PQ612438 : Autres EV-C (Illumina, génome complet)
- PP947790-PP947800 et PQ612550-PQ612575 : EV-D68 (Illumina, génome complet)

2.7.2. Laboratoire de Lyon

- PQ612496 – PQ612549 : séquences EV-D68 de France Métropolitaine (Illumina, Génome complet)

2.7.3. Laboratoire de l'Institut Pasteur

- PQ467716–PQ467717 : séquences de poliovirus détectés en Guyane française en 2024 (génome complet, Illumina). Origine : eaux usées.
- PQ467718–PQ467719 : séquences de poliovirus détectés en Guyane française en 2024 (région VP1, Oxford Nanopore). Origine : eaux usées.
- PP838726–PP838739 : séquences d'EV-D68 du Sénégal (génome complet, Illumina). Origine : écouillons nasopharyngés d'enfants de moins de 6 ans présentant une infection respiratoire sévère.
- PQ043000–PQ043027 : séquences d'EV-C et d'EV-G du Cameroun et de République Centrafricaine (régions P1 & P2, Illumina). Origine : selles d'animaux de ferme.

3. Activités de surveillance

Éléments clefs 2024

Bilan global

- 3778 infections à EV diagnostiquées contre 2339 en 2023
- Epidémie estivale de méningites d'ampleur et de caractéristiques démographiques similaires à celles des années pré-covid-19
- Prédominance de l'EV-D68 très majoritairement, en lien avec la mise en place d'une surveillance renforcée à l'automne. Le deuxième type majoritaire est l'E30 suivi de l'E9.

Infections neuro-méningées

- Epidémie de méningites d'ampleur similaire à 2018-2019, en augmentation par rapport à 2023
- Types les plus fréquemment identifiés : E30 (29%), E9 (13%) et E7 (11%)

Infections néonatales

- 494 infections néonatales, soit 13,1% des infections déclarées à EV, dont 21 sévères
- Types d'entérovirus les plus fréquents : E30 (19%), E25 (11%) et CVB3 (9%)
- Infections sévères dominées par des tableaux de choc cardiogénique et de défaillance multiviscérale (n=9) associées à des coxsackievirus de type B. Les types les plus fréquemment associés aux infections sévères étaient les CVB3 (28%), EV-D68 (18%) et CVB4 (14%).

Maladies pieds-mains-bouche / herpangine

- Surveillance syndromique – observatoire PARI : Recrudescence à partir de la semaine 20, avec une amplitude inférieure aux années précédentes.
- Surveillance viro-clinique : Epidémie modérée (n=245) caractérisée par la prédominance du CVA6 (49%) et du CVA16 (31%). Une seule infection à EV-A71 était associée à des signes cutanés.

Infections sévères

- 267 tableaux cliniques sévères hors infections néonatales (contre 105 en 2023), dont 249 pour lesquels l'imputabilité des EV était probable (n=162) ou possible (n=87)
- Seulement 44% des infections sévères sont survenues chez des enfants de moins de 5 ans (74% en 2023). La proportion élevée de cas sévères observés chez l'adulte est liée à la forte circulation d'EV-D68 et à la mise en place d'une surveillance renforcée de l'EV-D68.
- Atteintes neurologiques sévères : n=60, dont une majorité d'états convulsifs (n=27), suivis de tableaux d'encéphalite (n=16, dont 4 associées à un EV-D68, exclusivement chez des enfants), de cérébellites (n=9) et de déficits moteurs (n=8, dont 4 associés à une infection à EV-D68, exclusivement chez des adultes).

Infections à EV-A71

- 6 infections rapportées (contre 130 en 2022) chez des enfants de 10 jours à 7 ans, tous hospitalisés
- Une infection était associée à un tableau de rhombocéphalite dans un contexte de lymphome de Burkitt.

Infections à EV-D68

- Forte prévalence de l'EV-D68 en 2024, sans recrudescence significative de myélites en lien avec cette épidémie.
- 919 infections rapportées suite à l'alerte lancée auprès du RSE (171 en 2021, 139 en 2022, 67 en 2023)
- Co-circulation des clades B3 et D1, le clade D1 étant majoritaire (63% des EV-D68 sous-typés) pour la première fois depuis 2018.
- Clade D1 identifié majoritairement chez l'adulte comme en 2018 (69,3% des clades D1 identifiés)

Poliovirus

- Un PV3 Sabin-like détecté chez une patiente âgée de 6 mois hospitalisée pour crise convulsive et ayant séjourné au Cameroun
- Un PV3 sauvage détecté chez une salariée exposée au poliovirus en secteur industriel et excrété pendant plus de 3 mois

Infections à parechovirus

- 147 infections rapportées, contre 60 en 2023 et 117 en 2022
- Tableaux fébriles du nourrisson prédominants associés ou non à des signes neurologiques
- 11/147 (7,5%) avec présentation clinique sévère (4 sepsis sévères, 2 états de mal épileptique, 2 méningo-encéphalites, 2 détresses respiratoires, 1 mort inexpliquée du nouveau-né)

Surveillance dans les DROM

- Epidémie de conjonctivites hémorragiques à CVA24 variant, Mayotte
- Absence de poliovirus dans le cadre du screening ciblé de selles d'enfants de moins de 5 ans à la Réunion

3.1. Description du réseau de partenaires

3.1.1. Surveillance hospitalière : le RSE et autres réseaux

En 2024, 35 laboratoires du RSE (Figure 3, Tableau 12) 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*, 5 laboratoires assurant le génotypage en plus des deux laboratoires du CNR (Limoges, Marseille, Nantes, Nice et Tours).

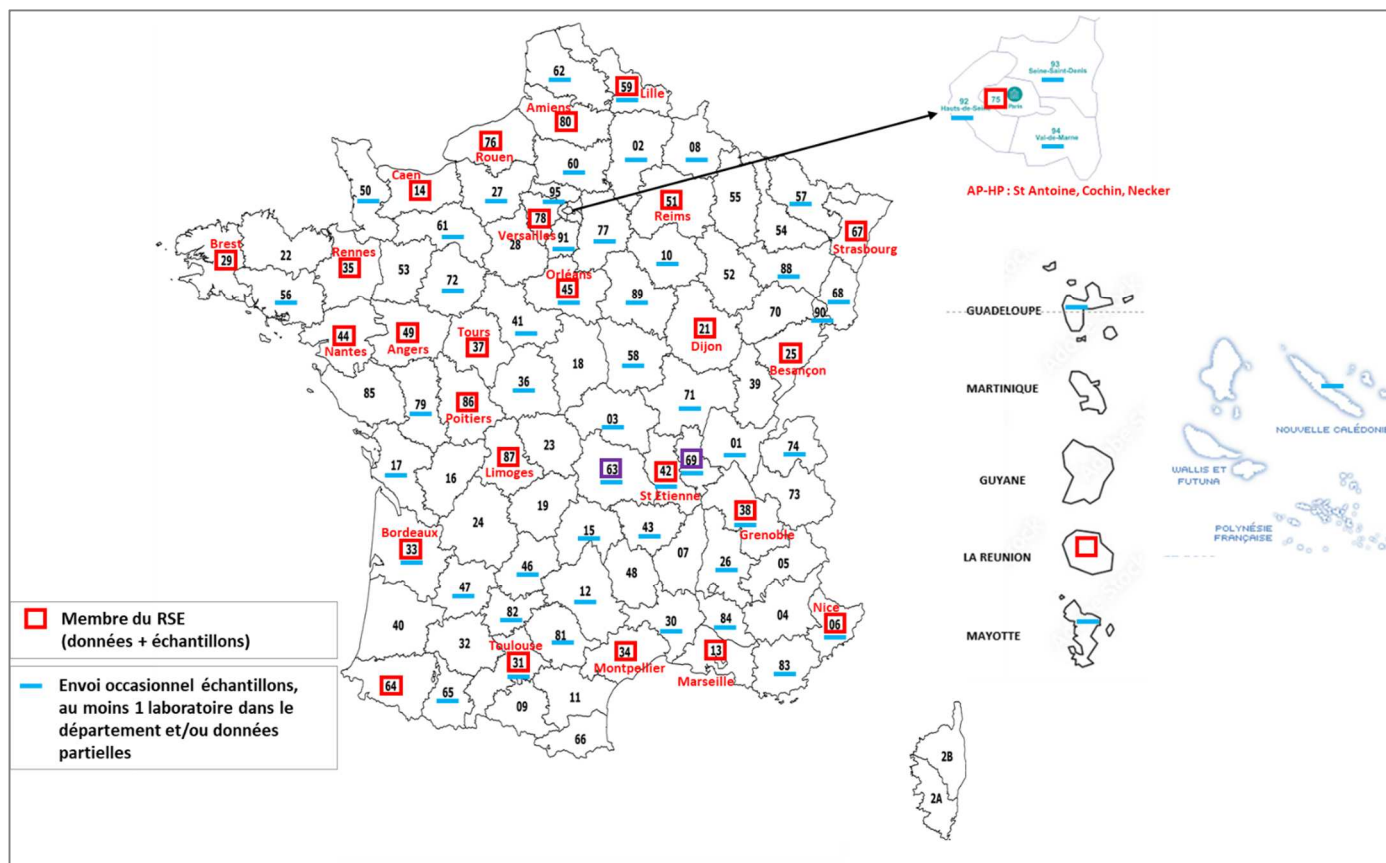


Figure 3. Laboratoires participants du RSE, 2024

A noter : le retrait du dispositif de surveillance des laboratoires du CHU de Nancy et du CH Foch (aucune donnée transmise en 2024).

L'ensemble des données sont collectées dans une base de données spécifique accessible aux membres du RSE depuis 2013.

En 2024, un nouvel acteur a contribué à la surveillance hospitalière des infections neuro-méningées et participe ainsi à une meilleure couverture de la surveillance nationale : le collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène (ColBVH). Ce réseau regroupe des biologistes des hôpitaux publics non universitaires qui rapportent, sur une base spécifique, les cas de méningites à enterovirus et parechovirus diagnostiquées en précisant les données démographiques (âge, sexe) et biologiques (résultats des analyses biochimique et cyto-bactériologiques des LCS). En 2024, 30 laboratoires du ColBVH ont rapporté 341 cas de méningites à entérovirus (dont 26 avec documentation clinique) et adressé 50 échantillons de LCS au LC pour génotypage.

Au total, 49 laboratoires métropolitains hors RSE, ont participé à la surveillance en transmettant des échantillons cliniques pour génotypage à l'un des laboratoires du CNR (figure 3).

Parmi les départements et régions d'outre-mer (DROM), 1 laboratoire (Réunion) a participé selon les mêmes modalités que le RSE (en rapportant le nombre de LCS et sang analysés) et 4 autres laboratoires (Nouvelle Calédonie, Polynésie Française,

Mayotte et Guadeloupe) ont transmis des échantillons pour génotypage. Les données spécifiques aux DROM sont présentées au chapitre 3.2.4.

Tableau 12 - Laboratoires et biologistes participant au RSE en 2024

Correspondants du LC – Clermont-Fd (n=12)			
CHU AMIENS	Marie Louchet-Ducoroy		
CH BAYONNE	D Leyssene	A-C Jaouen	
CHU BESANCON	Q Lepiller		
CHU CLERMONT FERRAND	A Mirand	C Henquell	
CH MANTES LA JOLIE	E Riverain		
CHU MARSEILLE	L Ninove	L Luciani	
CHU ORLEANS	C Guillaume		
APHP - COCHIN	AS L'Honneur		
CHU REIMS	L Andréoletti	V Brodard	
CHU RENNES	G Lagathu	V Thibaud	
CHU TOULOUSE	JM Mansuy	P Trémeaux	J Izopet
CH VERSAILLES	S Marque-Juillet		
Correspondants du LA - Lyon (n=23)			
CHU ANGERS	C Lefeuvre	A Ducancelle	
CHU BORDEAUX	ME Lafon	S Burrel	
CH BOURGOIN-JALLIEU	C Tellini		
CHU BREST	L Pilorgé		
CHU CAEN	C Schanen		
CHU DIJON	K Balay	C Auvray	A de Rougemont
CHU GRENOBLE	S Larrat		
CHU LILLE	M Lazrek		
CHU LIMOGES	S Rogez	S Alain	
CHU LYON	M Jeannoel	I Schuffenecker	B Lina
CHU MONTPELLIER	V Foulongne		
CHU NANTES	M Coste-Burel	T Drumel	BM Imbert
CHU NICE	G Gonfrier		
APHP NECKER	M Burgard	M Leruez	
APHP ST ANTOINE*	Y Michel	P Jatteau	A Schnuriger
CHU POITIERS	C Chessa	N Lévêque	
CH ROANNE	JB Murat		
CH VILLEFRANCHE	M Jourdain		
CHU ROUEN	V Lémée		
CHU ST ETIENNE	S Pillet		
CHU STRASBOURG	F Gallais		
CHI TOULON	AL Toyer	C Poggi	
CHU TOURS	L Handala	C Gaudy	

*Le laboratoire de Virologie de l'APHP Trousseau a déménagé à l'hôpital Saint Antoine en mars 2024

3.1.2. Surveillance ambulatoire de la maladie pied-main-bouche (PMB)

Une surveillance spécifique de la maladie PMB et de la circulation de l'EV-A71 a été mise en place en ambulatoire depuis 2014 au niveau national. Depuis 2017, la création du réseau PARI (pour *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. Elle s'accompagne, sur la base du volontariat, d'une surveillance virologique en prélevant au moins un échantillon de bouche ou de gorge pour recherche d'entérovirus, qui est envoyé au laboratoire du CNR à Clermont-Ferrand.

En 2024, 26 pédiatres (contre 44 en 2023) de l'observatoire PARI ont réalisé des prélèvements pour la surveillance virologique (n=172 contre 162 en 2023). Sept régions étaient représentées : Auvergne-Rhône-Alpes, Bretagne, Grand Est, Hauts de France, Ile de France, Normandie, Pays de la Loire.

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

3.2.1. Bilan épidémiologique et clinico-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 05 Mars 2024.

Echantillons biologiques analysés et répartition par classe d'âge

Le bilan annuel fait état de 121093 échantillons biologiques analysés en 2024 (contre 88051 en 2023) (LCS : +21% ; selles : idem ; sang : +19% ; gorge : +58% ; respiratoires : +52%). La forte augmentation du nombre de prélèvements analysés (+37%) est liée à une épidémie estivale de méningite un peu plus importante qu'en 2023 ainsi qu'à une circulation précoce et importante de l'EV-D68 associée à un renforcement de la surveillance de l'EV-D68 demandée au RSE. La répartition par nature et par classe d'âge des échantillons analysés et des échantillons positifs est présentée dans les tableaux 13 et 14 ci-contre.

Tableau 13 - Echantillons analysés en 2024 pour recherche d'EV au sein du RSE

	Nombre échantillons analysés	Nombre échantillons positifs
LCS	28910	2175
Selles	7595	559
Gorge	8857	259
Respiratoires	68295	1136
Sang	4065	174
Autres	3371	127
Total	121093	4430

Tableau 14 - Répartition des échantillons de LCS et selles analysés par les laboratoires du RSE en 2024 par classe d'âge

	<1 an	1 an - 4 ans	5 - 14 ans	15 - 24 ans	25 - 49 ans	≥ 50 ans	Inconnue	Total
LCS	4266	1714	2543	2268	6113	11929	77	28910
	14,78%	5,94%	8,81%	7,86%	21,17%	41,32%	0,14%	
SELLES	2564	1260	1039	437	651	1630	14	7595
	33,75%	16,59%	13,68%	5,75%	8,57%	21,46%	0,18%	

Distribution hebdomadaire des infections à EV

La distribution hebdomadaire des cas d'infections à EV rapportés par les laboratoires du RSE en 2024 (hors de la surveillance ambulatoire des syndromes PMB) est représentée en Figure 4 ci-dessous.

Au total, 3778 cas d'infections à EV ont été déclarés en 2024 avec une courbe épidémiologique montrant un niveau de circulation estivale des EV se rapprochant des années pré-COVID-19 et un deuxième pic automnal en lien avec le nombre important d'infections à EV-D68 diagnostiquées.

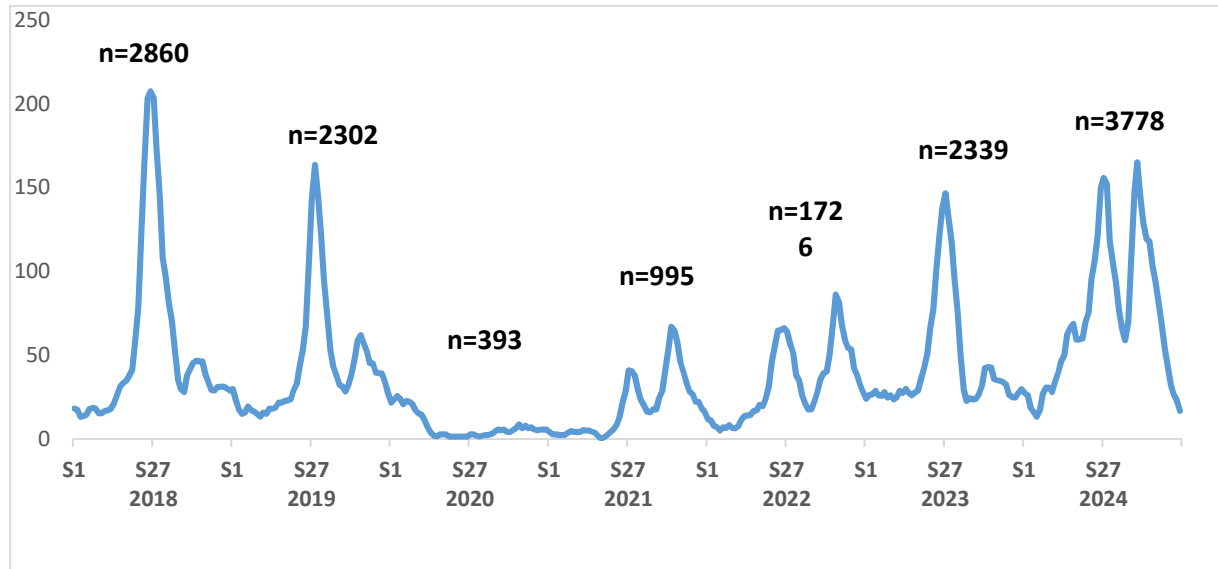


Figure 4. Distribution hebdomadaire des cas d'infections à EV, RSE, années 2018-2024

Caractéristiques démographiques

Le sexe ratio des patients était de 1,25 en 2024 (M/F : 2095/1682 ; 1 dossier non renseigné). La répartition des patients par classe d'âge est présentée dans la figure 5. La proportion de patients âgés de 15 ans ou plus était supérieur à ce que l'on observe habituellement (32% en 2024 vs 19% en 2023), en lien avec la forte circulation d'EV-D68 dans cette population en 2024.

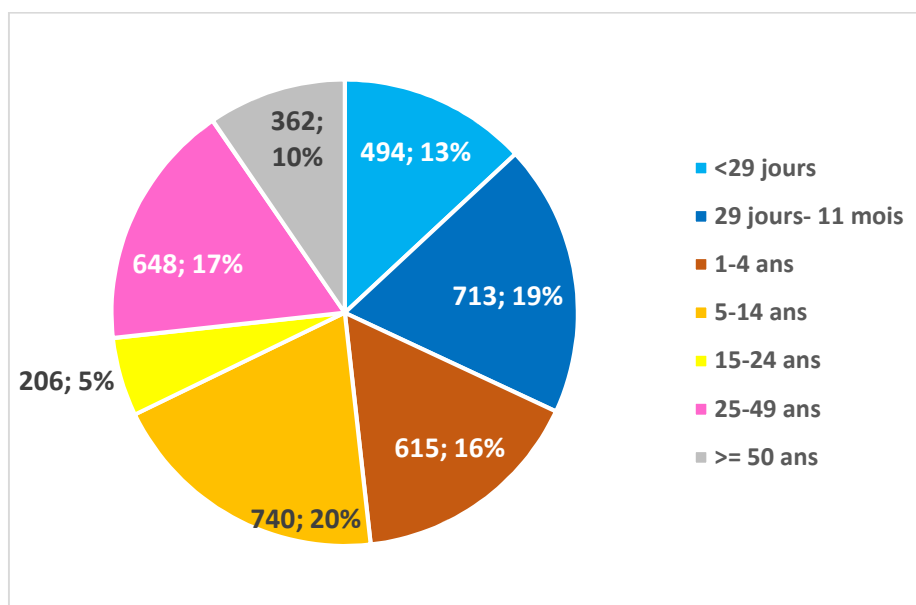


Figure 5. Répartition par tranche d'âge des patients avec une infection à EV en 2024

Données cliniques

Des informations cliniques étaient disponibles pour 76% (n=2868/3778) des dossiers patients rapportés en 2024 (comme en 2023). La répartition des manifestations cliniques est présentée dans le Tableau 15.

Tableau 15 – Signes cliniques associés aux infections à EV diagnostiquées par le RSE en 2024 (n=2868)

Signes cliniques	Nombre de patients	%
Fièvre	1773	61,8%
Signes neurologiques	1591	55,5%
dont syndrome méningé	540	18,8%
Signes respiratoires	1039	36,2%
Signes cardio-vasculaires / sepsis	73	2,6%
Signes cutanéomuqueux	191	6,7%
Signes digestifs	765	26,6%
Signes ophtalmologiques	6	0,2%

Typage moléculaire

Le génotypage est réalisé par les 2 laboratoires du CNR et 5 autres laboratoires : Limoges, Nantes, Nice, Tours et Marseille.

Au total, 75% (2850/3778) des dossiers d'infection à EV déclarés au RSE ont fait l'objet d'un génotypage au CNR, et parmi ces dossiers, un EV a été identifié dans 94% des cas (Tableau 16).

Tableau 16 – Performances du typage moléculaire (période 2020-2024)

	2020	2021	2022	2023	2024
% de dossiers séquencés parmi les dossiers déclarés par le RSE	62,2%	53,6%	81,7%	78%	75%
% de dossiers avec EV identifiés parmi les dossiers analysés	81,8%	89,1%	90,8%	90%	94%
% de dossiers avec EV identifiés parmi les dossiers déclarés par le RSE	50,9%	47,7 %	74,2%	70,2%	71%

L'EV-D68 a été détecté majoritairement en 2024. Cependant, la recherche d'EV-D68 a été réalisée de façon beaucoup plus systématique que les années précédentes grâce à la mise en place d'une surveillance renforcée de l'EV-D68 de septembre à novembre. L'E30 est le deuxième type prédominant en 2024 (15% des infections) et l'E9 est détecté dans seulement 6,76% des cas vs 22,11% des cas en 2023. Les différents types d'EV-A ont tous été détectés dans moins de 2,8% des cas (Figure 6).

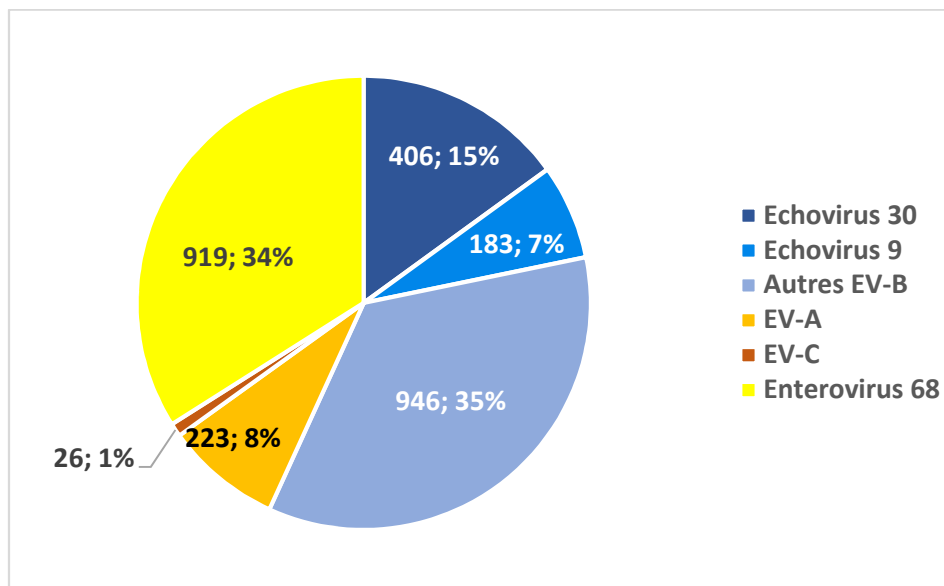


Figure 6. Distribution globale des types associés aux infections à EV déclarées par le RSE en 2024
(n= 2703 virus identifiés)

Tableau 17 – Fréquence des 47 types associés aux infections à EV diagnostiquées par le RSE en 2024 (n=2703)

Enterovirus 68	919	33,97%	Enterovirus 105	11	0,40%
Echovirus 30	406	15,00%	Coxsackievirus B1	10	0,37%
Echovirus 9	183	6,76%	Echovirus 14	9	0,33%
Echovirus 7	153	5,65%	Coxsackievirus A8	8	0,29%
Echovirus 25	151	5,58%	Echovirus 5	7	0,25%
Echovirus 6	123	4,54%	Enterovirus 71	7	0,25%
Coxsackievirus B3	113	4,17%	Coxsackievirus A1	3	0,11%
Coxsackievirus A6	76	2,80%	Echovirus 15	3	0,11%
Coxsackievirus B5	72	2,66%	Coxsackievirus A13	2	0,07%
Coxsackievirus A16	59	2,18%	Coxsackievirus A20	2	0,07%
Coxsackievirus B2	60	1,73%	Coxsackievirus A24	2	0,07%
Echovirus 13	61	1,62%	Echovirus 11	2	0,07%
Echovirus 21	62	1,62%	Coxsackievirus A7	1	0,03%
Echovirus 3	63	1,51%	Coxsackievirus A19	1	0,03%
Coxsackievirus A9	34	1,25%	Echovirus 16	1	0,03%
Echovirus 18	29	1,07%	Echovirus 19	1	0,03%
Coxsackievirus A2	22	0,81%	Echovirus 27	1	0,03%
Coxsackievirus A10	22	0,81%	Enterovirus 109	1	0,03%
Echovirus 20	20	0,74%	Enterovirus 116	1	0,03%
Coxsackievirus B4	16	0,62%	Enterovirus 117	1	0,03%
Coxsackievirus A4	16	0,59%	Enterovirus 74	1	0,03%
Echovirus 32	13	0,48%	Enterovirus 76	1	0,03%
Human enterovirus B	12	0,44%	Enterovirus 99	1	0,03%
Coxsackievirus A5	11	0,40%	Poliovirus 3	1	0,03%

Les EV des différentes espèces sont indiquées selon le code couleur suivant: bleu, espèce B; orange, espèce A; marron, espèce C; jaune, espèce D. Pour 12 infections à EV-B, il n'a pas été possible d'identifier précisément le type

Bilan par syndrome

Infections neuro-méningées

Le nombre de LCS positifs à EV pour lesquels les données démographiques et virologiques ont été déclarées était de 1810 (Tableau 18), auquel peuvent se rajouter les données du ColBVH (n=341), soit au total 2151 LCS positif à EV.

Tableau 18 - Nombre total de LCS analysés et positifs pour la recherche d'EV par laboratoire du RSE en 2024

Laboratoire participant	Nombre total de LCS analysés	Nombre total de LCS positifs EV	%
06_Virologie, CHU Nice	834	37	4,4%
13_Virologie, CHU Marseille	3049	88	2,9%
14_Virologie, CHU Caen	861	56	6,5%
21_Virologie, CHU Dijon	34	15	44,1%
25_Virologie, CHU Besançon	684	31	4,5%
29_Virologie, CHU Brest	615	110	17,9%
31_Virologie, CHU Toulouse	1418	118	8,3%
33_Virologie, CHU Bordeaux	1288	86	6,7%
34_Virologie, CHU Montpellier	755	0	0,0%
35_Bactériologie-Virologie, CHU Rennes	944	150	15,9%
37_Virologie, CHU Tours	777	51	6,4%
38_Biologie, CH Bourgoin-Jallieu	76	9	11,8%
38_Virologie, CHU Grenoble	815	22	2,7%
42_Bactériologie-Virologie, CHU Saint Etienne	742	45	6,1%
42_Biologie, CH Roanne	103	3	2,9%
44_Bactériologie-Virologie, CHU Nantes	1009	63	6,2%
45_Microbiologie, CH Orléans	794	27	3,4%
49_Bactériologie-Virologie, CHU Angers	465	86	18,5%
51_Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Reims	540	9	1,7%
59_Virologie, CHU Lille	730	81	11,1%
63_Virologie, CHU Clermont-Ferrand	1281	59	4,6%
64_Biologie, CH Bayonne	144	25	17,4%
67_Virologie, CHU Strasbourg	1593	38	2,4%
69_Biologie_CH Villefranche	60	25	41,7%
69_Virologie, HFME, CHU Lyon	3176	182	5,8%
75_Bactériologie-Virologie, AP-HP St Antoine	484	61	12,6%
75_Virologie, AP-HP Cochin	487	45	9,2%
76_Virologie, CHU Rouen	1674	94	5,6%
78_Biologie, CH Mantes la Jolie	54	11	20,4%
78_Microbiologie, CH Versailles	198	57	28,8%
80_Virologie, CHU Amiens	1382	51	3,7%
83_Biologie, CHI Toulon	330	24	7,3%
86_Microbiologie, CHU Poitiers	739	20	2,7%
87_Bactériologie-Virologie, CHU Limoges	434	31	7,1%
Total RSE (métropole)	28569	1810	6,4 %
Collège Bactériologie Virologie Hygiène	341	341	NA

L'épidémie de méningites en 2024 s'est caractérisée par un pic estival très court (S27) dont l'ampleur était similaire à celles observées en 2018-2019, et un faible rebond automnal (Figure 7). Ces données sont corrélées aux données issues du réseau Oscour qui collecte le nombre de passages aux urgences pour syndrome méningé (Figure 8).

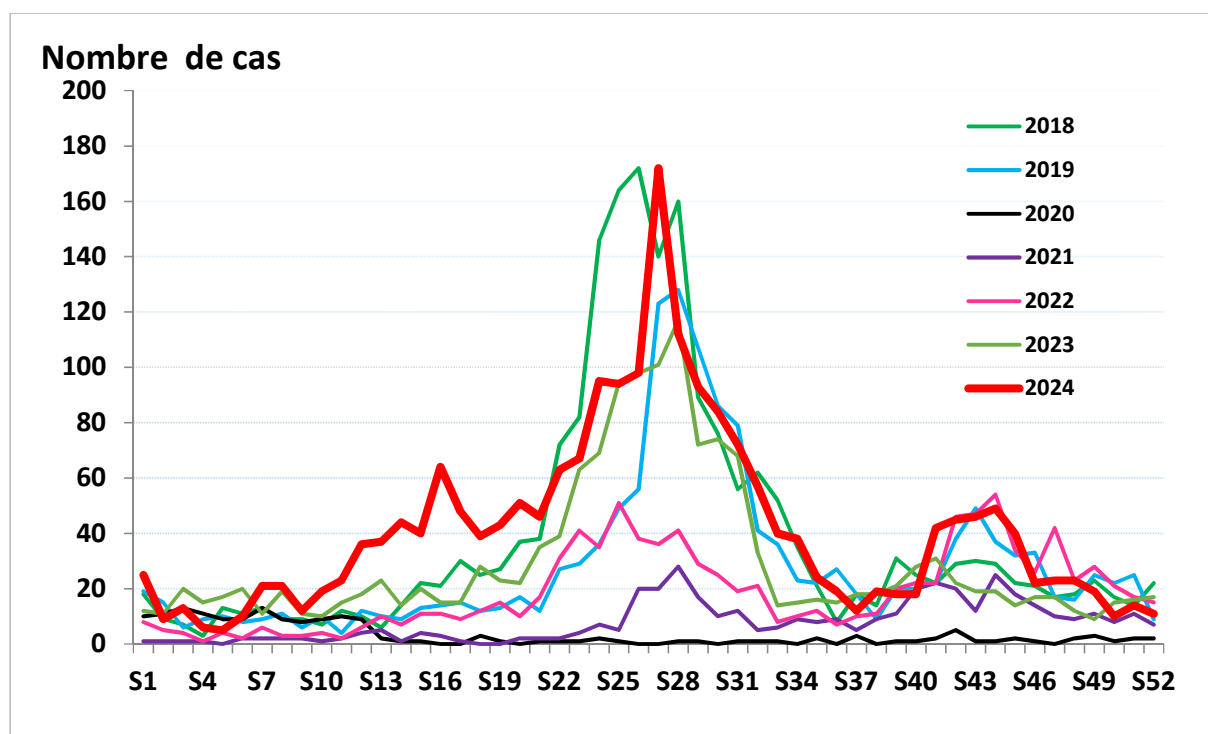


Figure 7. Distribution hebdomadaire des LCS positifs à EV, RSE, 2018-2024

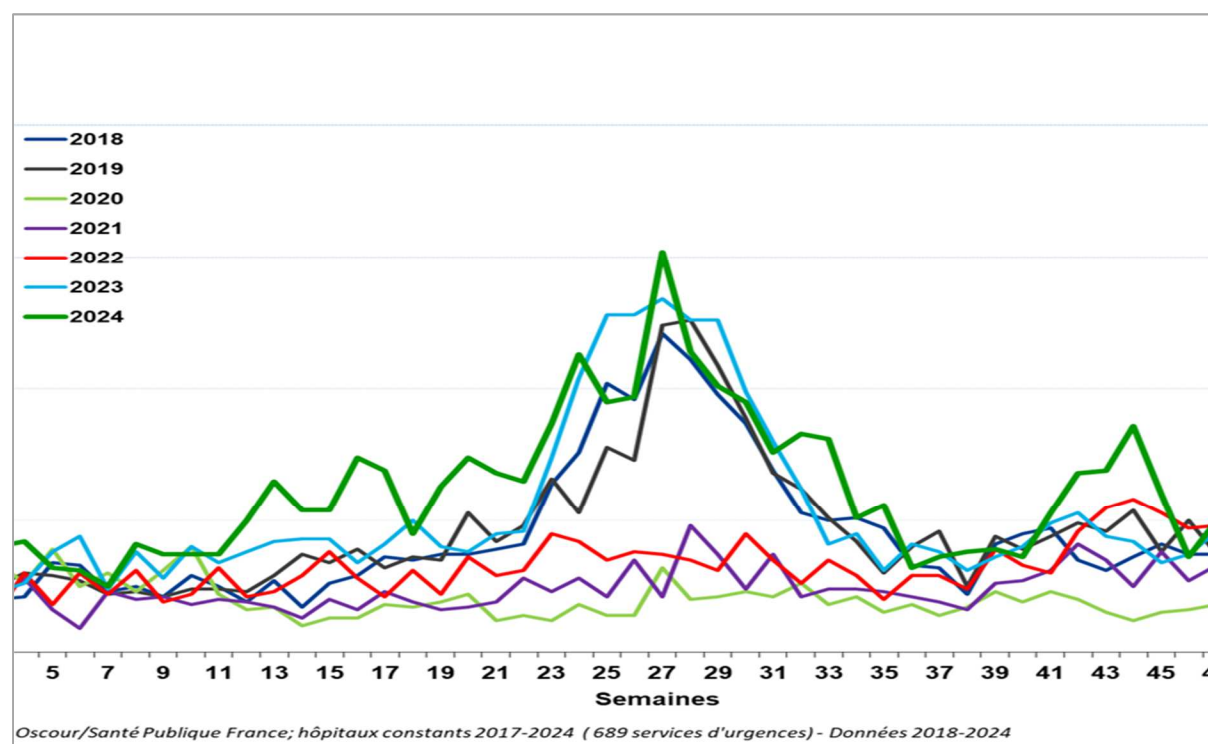


Figure 8. Distribution hebdomadaire des passages aux urgences pour syndrome méningé, 2018-2024 (données Oscour, Santé publique France)

Répartition par tranche d'âge

Les **données démographiques** étaient disponibles pour toutes les infections rapportées avec détection d'EV dans le LCS (Figure 9). Les enfants de moins de 1 an ont représenté 34% (725/2151) des patients, dont 405 (19%) nouveau-nés et 320 (15%) nourrissons de moins de 1 an. Par rapport à 2023, la proportion des enfants de moins de 5 ans est en baisse (45% contre 53% et 68% en 2023 et 2022, respectivement) et redevient celle observée en 2018-2019 (figure 10). L'âge médian était de 5 ans.

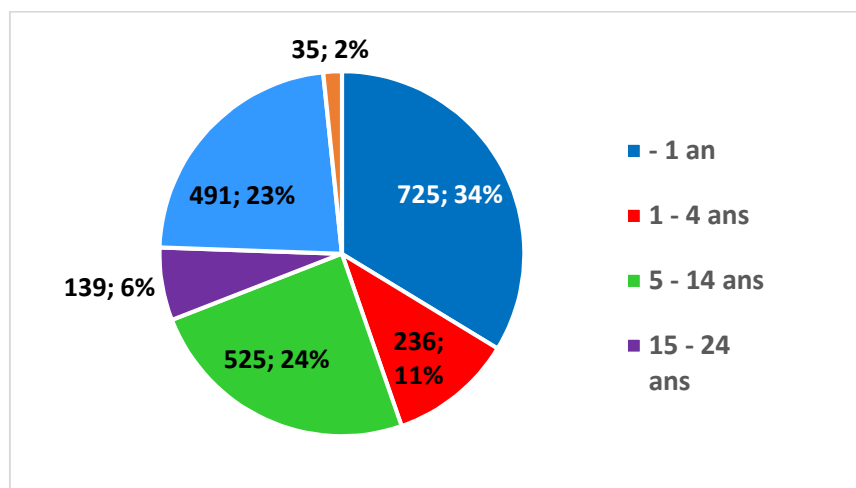


Figure 9. Répartition par tranche d'âge des patients ayant eu un LCS positif à EV en 2024 (n=2151)

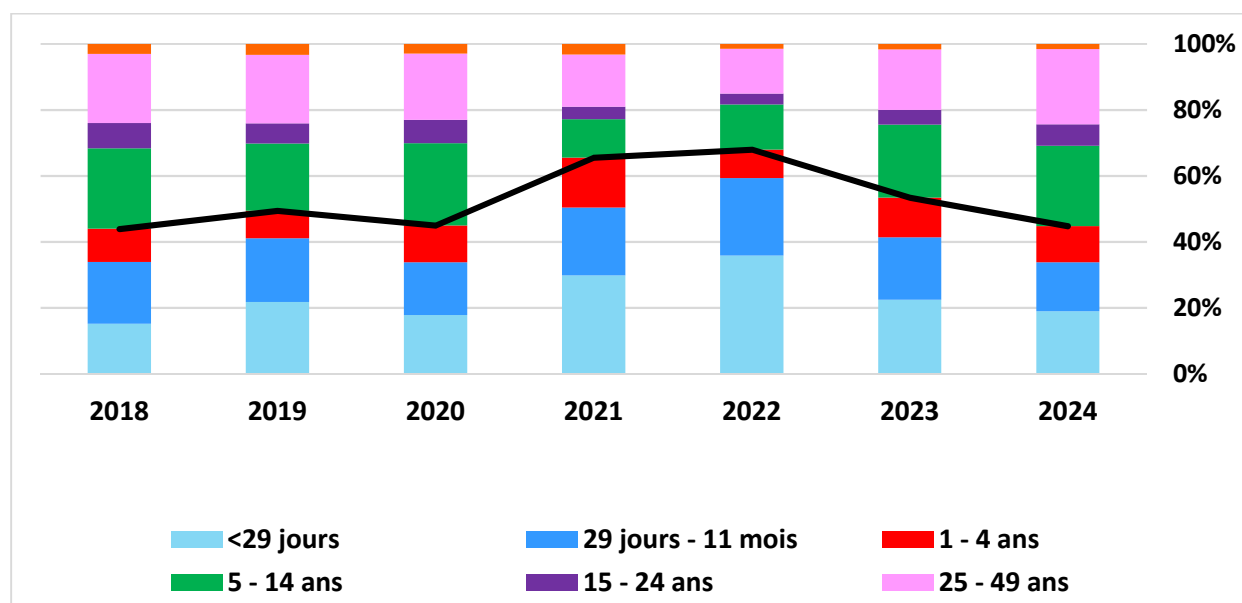


Figure 10. Evolution de la répartition par tranche d'âge des patients ayant eu une infection à LCS positif à EV, 2018-2024

Données cliniques

Les données cliniques étaient disponibles pour 1593/2151 (74%) des patients avec détection d'EV dans le LCS (Tableau 19).

Typage moléculaire

Le génotypage réalisé pour 1376/2151 (64%) des dossiers patients ayant eu un LCS EV+ a permis d'identifier un EV pour 1261/1376 (92%) des dossiers analysés, dont 1158/1261 (92%) directement à partir du LCS.

Les EV-B étaient prédominants et représentaient 96,4% des EV identifiés. **L'E30, l'E9 et l'E7 étaient les 3 types prédominants dans les infections neuro-méningées avec détection de l'EV dans le LCS (Figure 11) et chez les patients présentant des signes neurologiques associés.**

Tableau 19 - Signes cliniques associés aux infections neuro-méningées avec détection d'EV dans le LCS en 2024 (n=1593)

Signes cliniques	Nombre de patients	%
Fièvre	1110	69,7%
dont fièvre isolée	133	8,4%
Signes neurologiques	1365	85,7%
dont syndrome méningé	526	33,0%
dont irritabilité	207	12,9%
dont céphalées	567	35,6%
Méningite biologique	782	49,1%
Signes respiratoires	210	13,1%
Signes cardio-vasculaires / sepsis	19	1,2%
Signes cutané-muqueux	71	4,5%
Signes digestifs	466	29,3%
Signes ophtalmologiques	2	0,1%

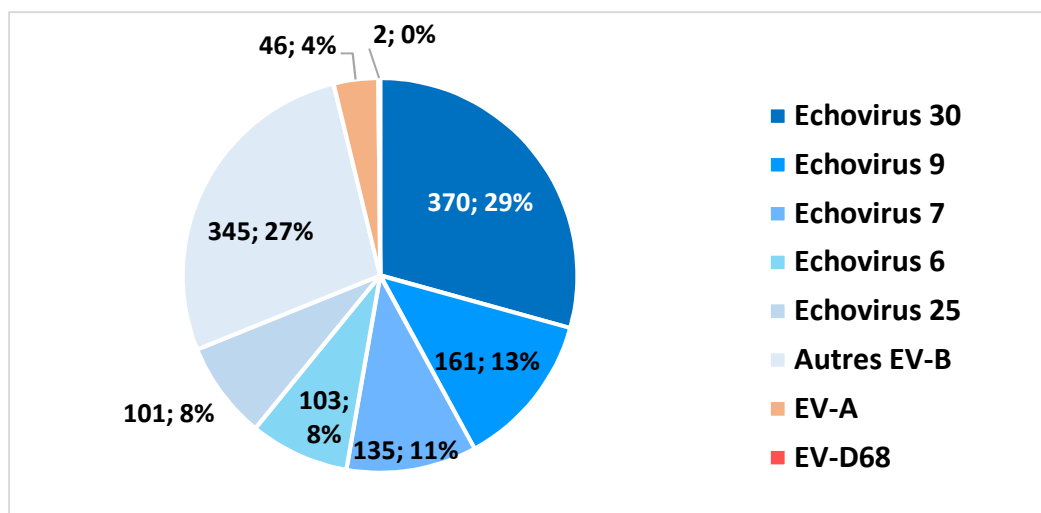


Figure 11. Distribution des types d'EV associés aux infections à LCS EV+ déclarés par le RSE en 2024 (n=1263*)

* 2 cas de co-infection à EV

L'E30 était aussi prédominant chez les nourrissons (< 24 mois) (Tableau 20).

Tableau 20 - Top 5 des types d'EV identifiés chez les patients avec LCS EV+, 2024

Ayant présenté des signes neurologiques (avec typage, n=792)			Enfants de moins de 24 mois (avec typage, n=474)		
E30	227	28,7%	E30	94	19,8%
E9	116	14,6%	E25	55	11,6%
E7	97	12,2%	E9	45	9,5%
E6	79	10%	E7	44	9,3%
E25	55	6,9%	CVB3	42	8,9%

Infections néonatales

Une infection néonatale a été rapportée chez 494 nouveau-nés soit 13,1% (494/3778) des patients ayant présenté une infection à EV en 2024. La proportion d'infections néonatales est similaire à celle observée sur la période 2016-2019, après une année 2022 marquée par une augmentation de la prévalence des infections néonatales et la survenue d'infections sévères à E11 (figure 12). En 2024, une seule infection néonatale à E11 a été rapportée.

Pour 81,9% (405/494) des nouveau-nés, le génome a été détecté dans le LCS. Les signes cliniques, disponibles pour 74,7% (369/494) des patients, sont présentés dans le Tableau 21.

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 15,8% (78/495) de la totalité des infections néonatales à EV.

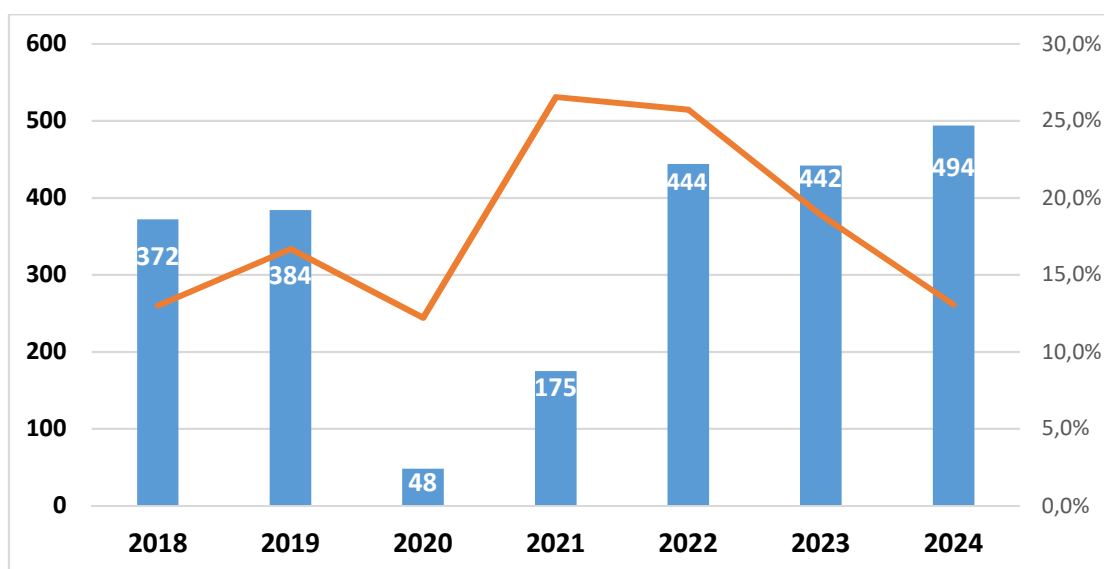


Figure 12. Nombre et proportion d'infections néonatales à EV, 2018-2024

Tableau 21 - Signes cliniques associés aux infections néonatales rapportées en 2024 (n=369)

Signes cliniques	Nombre de patients	%
Fièvre	304	82,4%
Signes neurologiques	220	59,5%
dont irritabilité	108	29,2%
hypotonie	31	8,4%
Signes respiratoires	82	22,2%
Signes cardio-vasculaires / sepsis	7	2,2%
dont défaillance hémodynamique	6	1,4%
dont myocardite	6	1,4%
Signes cutanéomuqueux	19	5,1%
Signes digestifs	65	17,6%
Signes ophtalmologiques	1	0,3%

Vingt-un (4,2%) patients ont présenté une infection sévère (contre 2,5 % en 2022) ; 4 patients, âgés de 6 à 15 jours, sont décédés (Tableau 22). Neuf patients âgés de 3 à 16 jours ont présenté un choc cardiogénique ou une défaillance multi-viscérale associé à un tableau de myocardite (n=6), une méningo-encéphalite (n=2) ou des signes neurologiques de type irritabilité (n=3). Lorsque le type d'EV était connu (6/7), il s'agissait d'un coxsackievirus de type B pour tous les patients, avec une prédominance du CVB3 (4/6). Onze patients âgés de 1 à 28 jours ont présenté un tableau dominé par une insuffisance

respiratoire aiguë associée à la détection de l'EV-D68 (n=4), de coxsackievirus B (n=4 dont un associé à un rhinovirus), CVA16 (n=2), E13 et E30 (n=1, chacun). Une mort subite inattendue du nourrisson a été rapportée pour un enfant de 15 jours dans un contexte de co-infection à E11 et rhinovirus. Les trois autres décès sont survenus dans des contextes de choc sur myocardite (n=2) ou de défaillance multiviscérale avec CIVD (n=1) associé à des infections à CVB, lorsque le type d'EV était connu (n=2).

Tableau 22 - Infections néonatales sévères rapportées en 2024 : données cliniques et virologiques (n=21)

Hôpital	Mois	Age (jours)	Sexe	Présentation clinique	Décès	Echantillons EV +	Type EV
APHP St Antoine	1	11	M	Choc cardiogénique sur myocardite. Méningite biologique et irritabilité. Notion de fièvre maternelle	Non	Selles, sang	CVB1
CHI Toulon	1	6	F	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS	E13
CHU Nantes	1	14	M	Choc cardiogénique sur myocardite	Oui	Sang	CVB4
CHU Amiens	2	25	M	Syndrome brady-apnéique	Non	ECNP, selles	CVB3 / RV-A
CHU Strasbourg	4	6	M	Défaillance multi-viscérale avec CIVD. Méningite biologique et irritabilité. Notion de fièvre maternelle	Oui	LCS	CVB3
CHU Lyon	4	0	M	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS	CVB2
APHP St Antoine	4	16	F	Défaillance multi-viscérale avec myocardite et hépatite. Entéropathie avec possible entérocolite. Méningite biologique. Evolution favorable sous IgIV et pocapavir	Non	LCS, sang, ANP	CVB3 / RV-A
CHU Toulouse	4	21	M	Syndrome brady-apnéique. Méningite biologique		LCS, gorge, selles	CVB3
CHU Lyon	6	3	M	Défaillance multi-viscérale. Choc cardiogénique, méningo-encéphalite et hépatite. Entérocolite. A bénéficié d'un traitement par pocapavir de J6 à J25 de vie. Evolution favorable	Non	LCS, sang	CVB2
CHU Rouen	7	6	M	Défaillance multi-viscérale. Choc cardiogénique réfractaire sur myocardite et méningo-encéphalite. Notion de fièvre maternelle	Oui	LCS	Non typé
CHU Brest	7	16	F	Détresse respiratoire aiguë sur pneumothorax apical droit dans un contexte de sepsis et de malformation pulmonaire.	Non	Selles	CVA16
CHU Brest	7	28	M	Détresse respiratoire dans un contexte de sepsis. Méningite biologique et irritabilité. Notion de varicelle une semaine avant	Non	Selles	CVA16
CHU Nantes	7	3	M	Syndrome brady-apnéique	Non	LCS, sang, selles	E30
CHU Nantes	7	12	F	Choc cardiogénique sur myocardite.	Non	Sang, liquide péricardique	CVB3
CHU Clermont-Fd	8	11	F	Choc cardiogénique sur myocardite. Prématurité et retard de croissance intra-utérin	Non	LCS, sang, gorge, selles	CVB3
CHU Lille	9	15	M	Mort subite inexpliquée du nourrisson	Oui	ANP	E11 / RV-B
CHU Bordeaux	9	6	M	Détresse respiratoire aiguë	Non	ANP	EV-D68 (D1)
CHU Grenoble	9	15	M	Détresse respiratoire aiguë sur bronchiolite	Non	ANP	EV-D68 (B3)
CHU Strasbourg	9	10	F	Syndrome brady-apnéique dans un contexte de rhinite. Prématurité	Non	ECNP	EV-D68 (B3)
CHU Strasbourg	9	27	M	Détresse respiratoire aiguë. Notion de contagé familial	Non	Aspiration trachéo-bronchique	EV-D68 (D1)
CHU Lyon	12	6	F	Détresse respiratoire et entéropathie sans entérocolite ulcéro-nécrosante	Non	Selles, sang	CVB4

Abréviations : LCS, liquide cébrospinal ; ANP, Aspiration nasopharyngée ; CIVD, Coagulation intra vasculaire disséminée.

Le génotypage, réalisé pour 72,6% (358/494) des cas d'infections néonatales, a permis l'identification de l'EV pour 89,9% (322/358) des dossiers analysés et 65,2% (322/494) des infections néonatales. Les 6 types les plus fréquents sont présentés dans le Tableau 23. Les infections sévères étaient en majorité associées à une infection à CVB (12/21, 57,1%) dont la moitié à CVB3.

Tableau 23 - Types d'entérovirus les plus fréquemment identifiés dans les infections néonatales en 2024 (n=322)

Type EV	Nombre (%) de virus identifiés	
	chez les nouveau-nés (n=322)	chez les plus de 28 jours (n=2381)
E30	61 (18,9%)	345 (14,5%)
E25	36 (11,2%)	115 (4,8%)
CVB3	29 (9%)	84 (3,5%)
E7	27 (8,4%)	127 (5,3%)
E9	22 (6,8%)	161 (6,8%)
CVB5	18 (5,6%)	55 (2,3%)

Maladie pieds-mains-bouche

En 2024, une infection à EV associée à une maladie pieds-mains-bouche (PMB), une herpangine ou une éruption vésiculeuse a été rapportée chez 265 patients, dont 159 issus de la surveillance ambulatoire (26 pédiatres du réseau PARI) et 106 de la surveillance hospitalière (laboratoires RSE). L'épidémie a été modérée (Figure 13).

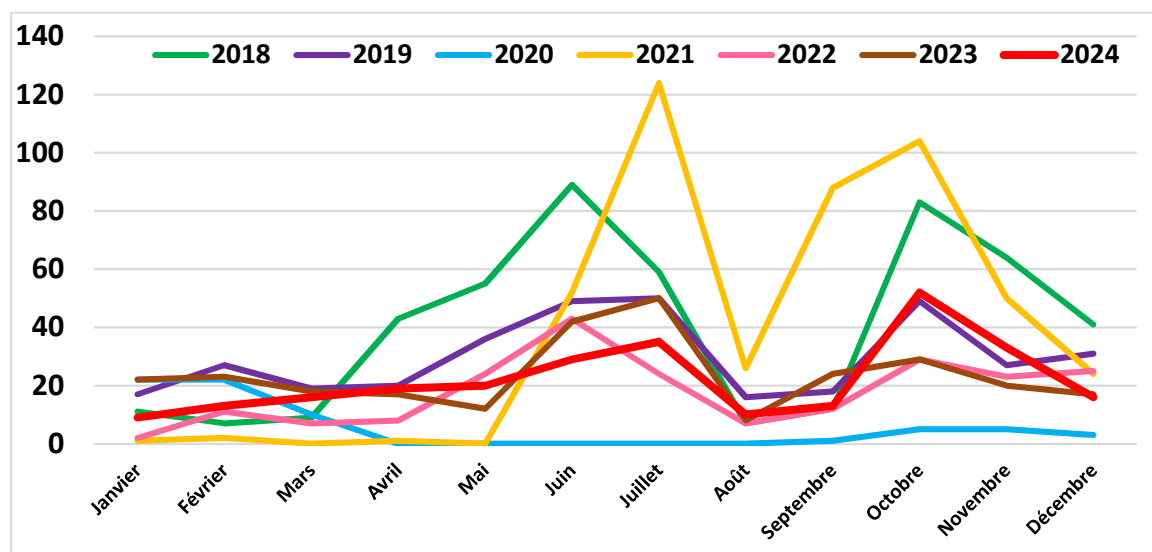


Figure 13. Répartition mensuelle des maladies PMB/herpangine, 2018-2024

La médiane d'âge était de 1,6 an (16 jours – 69 ans) avec une prédominance des enfants âgés de 1 à 4 ans (Figure 14).

Le génotypage réalisé pour 233/265 (87,9%) des patients a permis l'identification d'un EV chez 212 patients (91%), soit 80 % des infections associées à une maladie PMB/herpangine. Les entérovirus de l'espèce A représentaient 92,4% (196/212) des cas. Le CVA6 était majoritaire (49%), suivi par le CVA16 (31%) (Figure 15). Une seule infection à EV-A71 associée à une atteinte cutanéomuqueuse a été rapportée. Les atteintes cutanéomuqueuses associées à une infection à EV-B (n=15) étaient majoritairement des herpangines ou des vésicules buccales isolées (12/15) avec identification à partir du LCS, du sang ou de vésicules cutanées dans 5 cas.

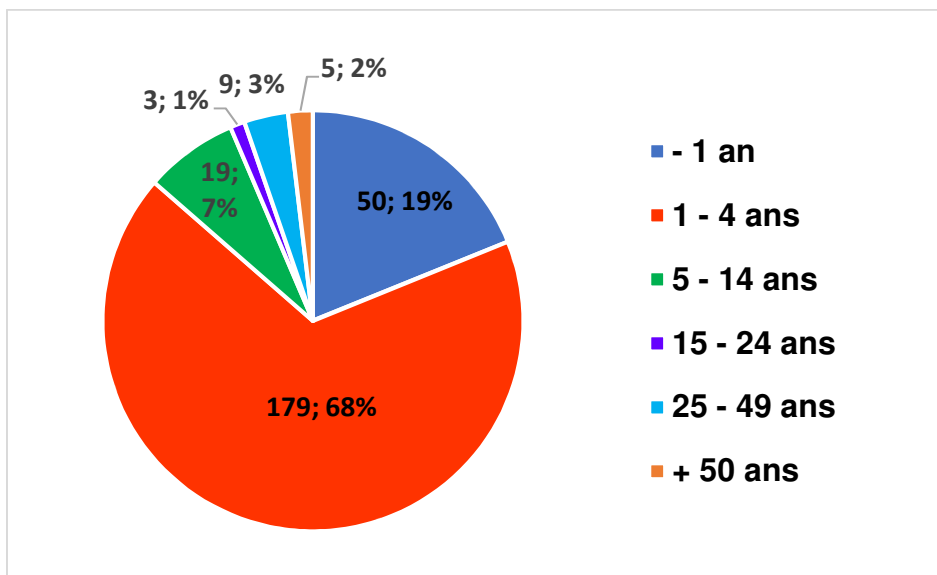


Figure 14. Répartition par classe d'âge des patients ayant présenté une maladie PMB/herpangine en 2024

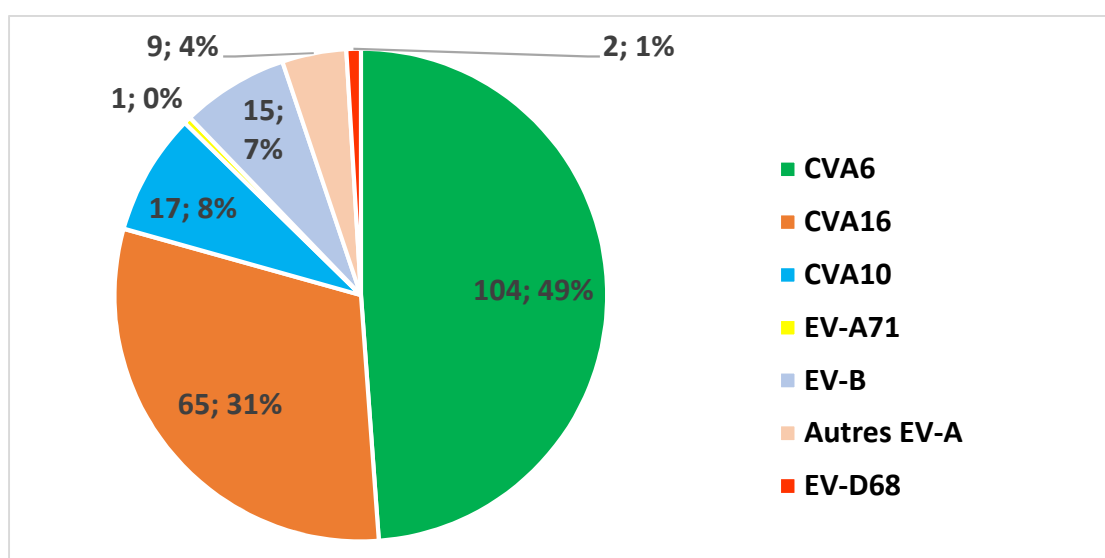


Figure 15. Distribution des types d'EV associées à des maladies PMB/herpangine en 2024 (n=212)

Parmi les 245 patients pour lesquels la donnée « hospitalisation » était renseignée, 59 (24%) ont été hospitalisés. Pour ces patients, l'âge médian était de 1,1 an (16 jours – 69 ans). Les signes neurologiques associés aux atteintes cutanéomuqueuses étaient dominés par l'irritabilité et des céphalées. Parmi les virus typés (38/59), les plus fréquents étaient le CVA6 (24/38) et le CVA16 (6/38). La seule infection à EV-A71 rapportée était associée à une fièvre mal tolérée avec irritabilité dans un contexte de maladie PMB chez un enfant de 16 mois. Deux patients, âgés de 17 et 10 mois, ont présenté une infection sévère à CVA6 associée, respectivement, à une cérébellite post maladie PMB (détection dans les selles) et à une dermatite bulleuse compliquée d'un choc hypovolémique (détection dans des vésicules cutanées).

Infections sévères à EV

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 2024, 289 (116 en 2023) tableaux cliniques sévères associés à une infection à EV ont été rapportés par le RSE, dont 267 (105 en 2023) chez des patients âgés de plus de 28 jours (Figure 17). Pour 18 (6,7%) 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 162 (60,7%) 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 dans un prélèvement respiratoire et expression respiratoire ou neurologique de type myélite). Pour 87 (32,6%) 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 en association avec une symptomatologie compatible, cas de mort subite du nourrisson (MIN) avec ou sans données d'autopsie).

Seuls les cas probables/possibles (n=249) ont été retenus pour l'analyse viro-clinique ci-après (Figure 16 et Tableaux 24 et 25).

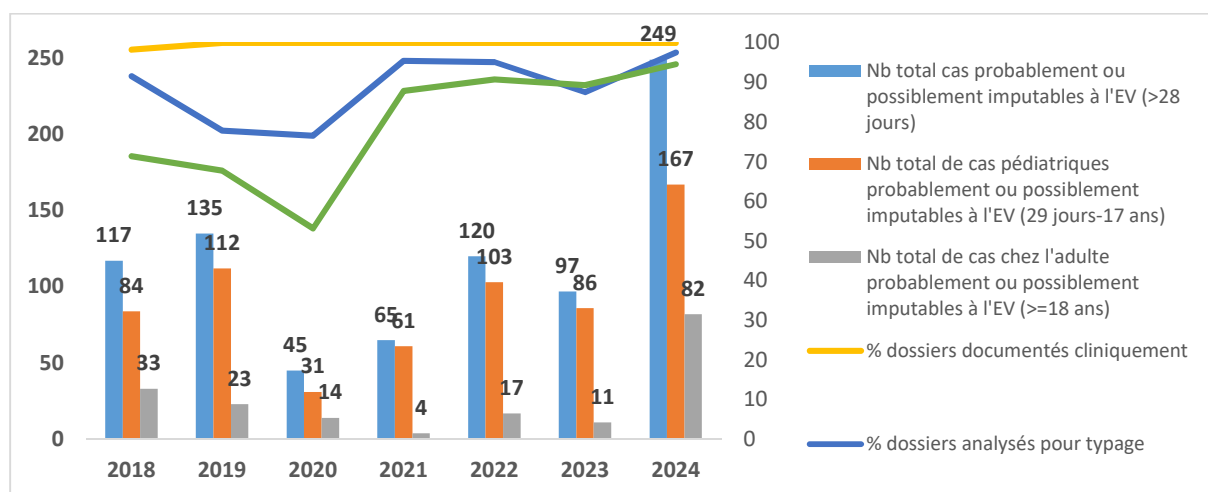


Figure 16. Nombre d'infections sévères à EV, 2018-2024

La répartition par classe d'âge ainsi que 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 17 et Tableaux 24 et 25). En 2024, la proportion d'adultes parmi les patients ayant présenté une forme clinique sévère est plus importante qu'en 2023 (33,0% en 2024 vs 11,3% en 2023) en lien avec la forte circulation d'EV-D68 : en effet un EV-D68 a été identifié chez 78% des adultes ayant présenté une forme clinique sévère.

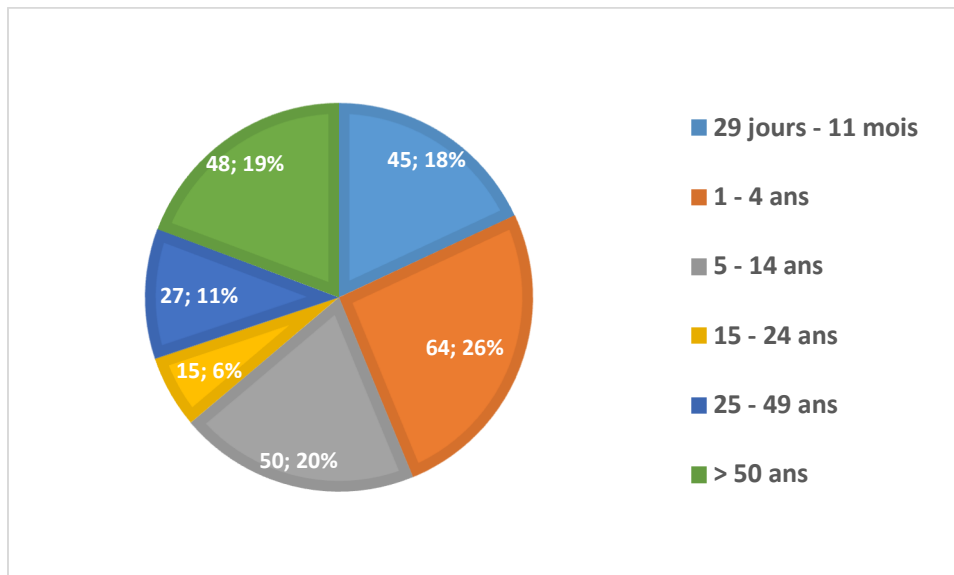


Figure 17. Répartition par tranches d'âge des cas d'infections sévères à EV (n=249)

Le génotypage a été réalisé pour 97,6% (243/249) des dossiers et une identification a pu être obtenue pour 94,7% (230/243) des dossiers analysés (Figure 17). L'EV-D68 était associé à 69,4% des présentations cliniques sévères. Cette forte proportion de cas sévères liés à EV-D68 n'a toutefois fait l'objet d'alertes par les cliniciens. Tous les autres types d'EV ont été identifiés chez moins de 3,5% des patients ayant présenté une forme grave.

Au total, 21/249 patients sont décédés, soit 8,4% des tableaux sévères (hors infections néonatales) avec imputabilité probable (n=4) ou possible (n=17) de l'EV (Tableau 26).

- Mort subite ou inexplicable du nourrisson ou du jeune enfant (MSN, MIN) (n=10)
- Etat de mal épileptique réfractaire associé à une encéphalite (n=1)
- Défaillance multi-viscérale (n=2) dont une chez un enfant avec multiples infections et une chez un patient ayant présenté un choc mixte cardiogénique et septique
- Tableaux respiratoires sévères (n=5) dont 2 exacerbations de BPCO, 1 pneumopathie hypoxémiant avec co-infection à pneumocoque, 1 détresse respiratoire, 1 syndrome d'asphyxie marqué non spécifique avec oedème cérébral et œdème pulmonaire majeur (n=1)
- Décompensation cardiaque (n=1) ou cardio-respiratoire (n=1) au décours d'une infection EV-D68
- Hépatite fulminante chez une patiente immuno-déprimée (n=1)

Au total, l'EV-D68 a été identifié chez 10 patients décédés, seul (n=6) ou en co-infection.

Tableau 24 - Infections pédiatriques à EV associées à des tableaux cliniques sévères (29 jours -17 Ans)

Signes cliniques	2018 (N=84)		2019 (N=112)		2020 (N=31)		2021 (N=61)		2022 (N=100)		2023 (N=86)		2024 (N=167)	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	N	%	N	%
Signes neurologiques	57	67,9%	77	68,8%	18	58,1%	35	57,4%	41	41,0%	50	58,1%	46	27,5%
<i>dont Convulsions</i>	17	20,2%	24	21,4%	5	16,1%	16	26,2%	27	27,0%	20	23,3%	26	15,6%
<i>Syndrome cérébelleux/ cérébellite</i>	8	9,5%	16	14,3%	1	3,2%	5	8,2%	2	2,0%	7	8,1%	8	4,8%
<i>Encéphalite/Rhombencéphalite</i>	18	21,4%	20	17,9%	5	16,1%	8	13,1%	6	6,0%	12	13,9%	8	4,8%
<i>ADEM/REM/myélites/polyradiculo-névrites/Guillain-Barré</i>	16	19,0%	15	13,4%	6	19,4%	5	8,2%	4	4,0%	9	10,5%	3	1,8%
<i>Encéphalopathie</i>	1	1,2%	1	0,9%					2	2,0%				
<i>Paralysie faciale isolée</i>	1	1,2%	1	0,9%	1	3,2%	1	1,6%					1	0,6%
Troubles conscience											1	1,2%		
Syndrome méningé sévère											1	1,2%		
Signes respiratoires	15	17,9%	11	9,8%	8	25,8%	23	37,7%	45	45,0%	19	22,1%	97	58,1%
<i>dont Asthme</i>	6	7,1%	2	1,8%	4	12,9%	12	19,7%	23	23,0%	11	12,8%	64	38,3%
<i>Bronchiolite</i>	1	1,2%			2	6,5%	6	9,8%	4	4,0%	3	3,5%	12	7,2%
<i>Syndrome brady-apnéique</i>	2	2,4%	4	3,6%			1	1,6%	5	5,0%	1	1,2%	5	3,0%
<i>Pneumopathie (hypoxémiante)</i>			1	0,9%	1	3,2%	3	4,9%	4	4,0%	1	1,2%	5	3,0%
<i>Laryngite</i>													1	0,6%
<i>Décompensation respiratoire</i>													1	0,6%
<i>Autres DRA</i>	6	7,1%	4	3,6%	1	3,2%	1	1,6%	10	10,0%	3	3,5%	7	4,2%
Signes cardiaques ou cardio-vasculaires	7	8,3%	16	14,3%	8	25,8%	4	6,6%	18	18,0%	12	14%	12	7,2%
<i>dont Sepsis / décompensation cardiaque/choc cardio-vasculaire</i>	3	3,6%	10	8,9%	1	3,2%	2	3,3%	6	6,0%	7	8,1%	3	1,8%
<i>Myocardite/ choc cardiogénique/péricardite</i>	2	2,4%	4	3,6%	4	12,9%	1	1,6%	6	6,0%	4	4,7%	6	3,6%
<i>Défaillance multi-viscérale</i>			1	0,9%	1	3,2%			1	1,0%			1	0,6%
<i>ACR</i>	2	2,4%	1	0,9%	1	3,2%	1	1,6%	6	6,0%				0,00%
<i>Décompensation cardio-respiratoire</i>													2	1,2%

<i>Purpura fébrile</i>											1	1,2%		
Signes cutanéomuqueux	1	1,2%			1	3,2%							1	0,6%
<i>SPMB/érosions buccales</i>					1	3,2%								
<i>Eczéma coxsackium</i>	1	1,2%												
<i>Dermatose bulleuse</i>													1	0,6%
Signes digestifs/hépatiques	1	1,2%	4	3,6%					1	1,0%			1	0,6%
<i>GEA</i>			1	0,9%									1	0,6%
<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%				
Autres tableaux			3	2,7%					1	1,0%			3	1,8%
<i>Trismus</i>			1	0,9%										
<i>Décompensation surrénalienne</i>			1	0,9%										
<i>Décompensation acidémie propionique</i>									1	1,0%				
<i>Décompensation acido-cétonique</i>			1	0,9%										
<i>Bradycardie</i>													1	0,6%
<i>Décompensation de cytopathie mitochondriale</i>													1	0,6%
<i>Rhabdomyolyse</i>													1	0,6%
Décès	8	9,5%	8	7,1%	4	6,7%	2	3,3%	14	14,0%	9	10,5%	12	7,2%
<i>Mort subite du nourrisson (ou décès inexpliqué)</i>	3	3,6%					1	1,6%	9	9,0%	8	9,3%	10	6,0%
<i>ACR</i>	3	3,6%			2	6,5%	1	1,6%	2	2,0%	1	1,2%		
<i>Défaillance MV</i>					2	6,5%							1	0,6%
<i>Encéphalite/encéphalopathie</i>	2	2,4%							3	3,0%				
<i>Etat de mal réfractaire</i>													1	0,60%

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

Signes hépatiques													1	1,2%
<i>Cytolyse hépatique sévère</i>					1	7,1%								
<i>Hépatite fulminante</i>													1	1,2%
Autres tableaux cliniques							1	25,0%	2	13,3%			1	1,2%
<i>Décompensation surrénalienne</i>							1	25,0%						
<i>MFIU</i>									2	13,3%				
<i>Diarrhées chroniques sévères</i>													1	1,2%
Décès	4	12,1%			1	7,1%	1	25,0%	2	13,3%	5	45,5%	9	11,0%
<i>Myocardite/choc cardiogénique</i>	1	3,0%					1	25,0%	1	6,7%			1	1,2%
<i>Défaillance MV</i>	1	3,0%									1	9,1%		
<i>Détresse respiratoire aiguë sur exacerbation BPCO</i>											1	9,1%	2	2,4%
<i>Pneumopathie (hypoxémiante)</i>	2	6,1%							1	6,7%			1	1,2%
<i>Autre(s) DRA</i>											1	9,1%	3	3,7%
<i>Hépatite fulminante</i>													1	1,2%
<i>Décompensation cardiaque</i>													1	1,2%
<i>Dégradation neurologique sur encéphalite ou encéphalopathie</i>											2	18,2%		

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

*Dysarthrie cérébelleuse et déficit hémicorporel droit au décours syndrome méningé chez le même patient

Tableau 26 - Présentation clinique des infections à EV associées à des décès

Hôpital	Mois année	Age	Sexe	Présentation ou contexte clinique	Echantillons EV +	Type EV
Imputabilité probable						
CHU Nantes	9	20 ans	M	Détresse respiratoire chez un patient encéphalopathe avec insuffisance respiratoire chronique	ENP	EV-D68 D1
CHU Nantes	9	76 ans	M	Décès au décours décompensation BPCO	ENP	EV-D68 D1
CHU Bordeaux	10	77 ans	F	Décès au décours d'une décompensation cardio-respiratoire	ANP	EV-D68 D1
CHRU Tours	10	90 ans	F	Décompensation cardiaque au décours infection ORL	ENP	EV-D68
Imputabilité possible						
CH Jean-Verdier	2	2 mois	F	MIN	Selles	CVB3
CHU Rennes	10	7 mois	F	MIN	ANP	EV-D68 B3
CHU Saint Etienne	10	1 mois	M	MIN	LCS, sang, selles	E7
CH Jean-Verdier	8	2 ans	F	MIN au décours d'une virose avec fièvre, asthénie, AEG, dyspnée	LCS, selles, ENP	CVB5
CHU Angers	9	4 mois	M	MIN (Hémocultures positive à <i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i> , prélèvement respiratoire positif à <i>S. pneumoniae</i>)	Selles	CVA6
CHU Dijon	6	5 mois	M	MIN dont la possible hypothèse est une pneumopathie d'inhalation sur infection entérovirale	Selles, Gorge, LBA	E25
CHU Angers	6	8 mois	M	MIN dans un contexte de suspicion de choc septique avec probable myocardite et OMA en cours de traitement	LCR	Non typable
APHP Avicennes	9	20 mois	M	MIN dans un contexte de fièvre, hypotonie et vomissements	ENP	EV-D68 B3
CH Jean-Verdier	8	23 mois	M	MIN au décours infection ORL et coinfection RV-C et SARS-CoV2	ENP	CVA16
CHU Poitiers	7	1 mois	F	MIN	Gorge, ENP, biopsie hépatique, liquide péricardique	E25
APHP Necker	3	2 ans	F	Etat de mal épileptique réfractaire avec encéphalite associée et lésions de souffrance cérébrale diffuse de type cytokinique sur l'IRM	ENP	CVA2
CHU Lyon	2	2 ans	F	Défaillance multi-viscérale dans un contexte de multi-infections (<i>Mycoplasma pneumoniae</i> et Parvovirus B19)	Sang	E6
APHP St Louis	9	33 ans	F	Hépatite fulminante chez une patiente allogreffée de CSH (coinfection SARS-CoV2)	Sang, ENP	E30
CHU de Strasbourg	10	43 ans	M	Défaillance multi-viscérale suite à un choc mixte cardiogénique et septique d'origine pulmonaire présumée et suspicion de translocation digestive associée non documentée	LBA	EV-D68 D1
CHU Saint Etienne	6	49 ans	F	Syndrome d'asphyxie marqué non spécifique avec oedème pulmonaire et cérébral. Coinfection à <i>B. pertussis</i>	Biopsie trachée, biopsie pulmonaire, biopsie cérébrale	EV-D68 B3
CHU Montpellier	8	67 ans	F	Décès au décours décompensation BPCO (coinfection <i>H.influenzae</i>)	ANP	EV-D68 D1
CHU Nantes	9	75 ans	M	Décès au décours d'une pneumopathie hypoxémiante avec identification d'un <i>S.pneumoniae</i> chez un patient immunodéprimé	ENP	EV-B68 B3

Point spécifique sur les atteintes neurologiques sévères

En 2024, une atteinte neurologique sévère hors infection néonatale a été rapportée chez 64 patients. Selon les mêmes critères que décrits ci-dessus, l'imputabilité de l'infection à EV a été retenue, respectivement, comme probable ou possible pour 25 (42%) et 35 (58%) patients, soit 60/64 (94%).

Comme les années précédentes, elles ont majoritairement été rapportées chez des enfants (76,7%). Les enfants de moins de 5 ans étaient les plus touchés, et en particulier les enfants de 1-4 ans (53,3%).

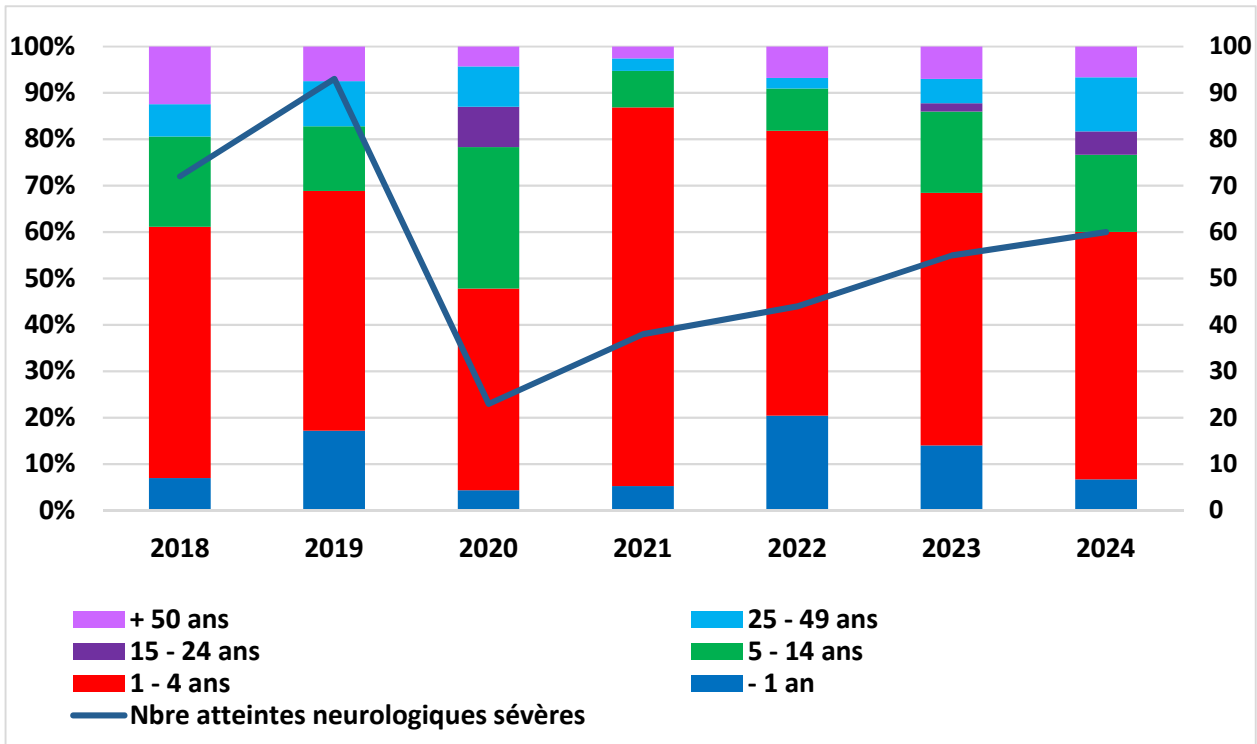


Figure 18. Nombre d'infections neurologiques sévères et distribution par classe d'âge, 2018-2024

Le génome des EV a été détecté dans le LCS (n=24/60, 40%) et/ou le sang (5/60, 8,3%) et/ou un prélèvement nasopharyngé (33/60, 55,5%) et/ou les selles (19/60, 31,7 %). Le typage moléculaire, réalisé pour 57/60 (95%) des dossiers patients, a permis d'identifier un EV pour 47/57 (82,5%) des dossiers avec atteinte neurologique sévère. Une co-infection CVB3/CVA10 a été rapportée.

En 2024, l'EV-D68 est le type le plus fréquemment associé à des atteintes neurologiques sévères (11/48, 23%, décrites ci-dessous). Les EV-B et les EV-A représentent 48% (23/48) et 27% (13/48), respectivement (Figure 19).

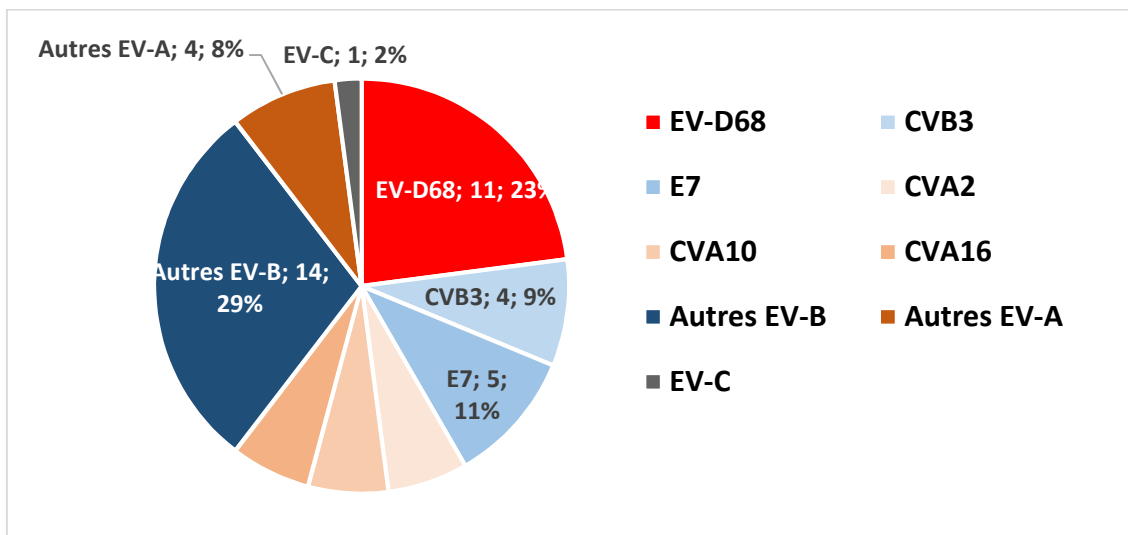


Figure 19. Types d'EV associés aux atteintes neurologiques sévères en 2024 (n=48)

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. Les crises convulsives complexes/état de mal étaient le tableau clinique prédominant (27/60, 45%), suivies des tableaux d'encéphalite (21,6%) et des cérébellites (16,1%). Dans un contexte de très forte circulation de l'EV-D68, les tableaux d'encéphalo-myélites ou de paralysies n'ont pas connu une recrudescence marquée et représentaient 11,7% (7/60). Les atteintes neurologiques sévères associées à la détection de l'EV-D68 étaient des encéphalites (n=4), des déficits moteurs (n=4) et des tableaux convulsifs (n=3). Les déficits moteurs associés à la détection de l'EV-D68 n'ont été observés que chez des adultes dont un patient de 18 ans et 3 patients de plus de 50 ans. Les tableaux d'encéphalite associés à l'EV-D68 ont été rapportés chez 4 enfants dont 3 âgés de 8 à 13 ans et 1 nourrisson de 9 mois.

En 2024, ont notamment été rapportés :

- Tableaux convulsifs : n=27 patients

- Méningoencéphalite, encéphalite et rhombencéphalite : n=16 dont 9 enfants (1 mois-13 ans) et 7 adultes (28-42 ans). Chez les enfants, ces tableaux étaient associés à un EV-D68 (n=4), E7(n=2) et à l'EV-A71, CVA10, CVA16 et E7 (n=1, chaque). Parmi les adultes, 6 présentaient un facteur de risque d'infection sévère connu liée à une immunodépression (anti-CD20, n=3 ; déficit primaire, n=1 ; greffe rénale, n=1 ; lymphome, n=1). Pour 3 patients, une méningo-encéphalite chronique a été rapportée avec détection de l'EV dans le sang (n=2) ou dans les prélèvements périphériques (n=1). Chez les adultes, les EV associés étaient un CVB5 (n=2), CVB3, E6, E7 et CVA16 (n=1, chacun).

- Cérébellite et ataxie cérébelleuse : n=9. Il s'agissait de 8 enfants (17 mois à 7 ans) et d'un jeune adulte de 21 ans.

- Encéphalomyélite, paralysie, déficit moteur : n= 8. Il s'agissait de 3 enfants (3-6 ans), infectés par un EV-B détecté dans les selles (dont 1 co-infection avec un RV). Chez les 5 adultes (18-75 ans), le tableau était associé à une infection à EV-D68 sous-génotype D1 pour 4 d'entre eux ; le typage était impossible pour un patient. Quatre adultes présentaient des signes respiratoires associés (détection d'EV-D68 dans les voies respiratoires) ; pour le dernier adulte âgé de 24 ans, sans signe respiratoire rapporté, l'EV-D68 était détecté dans le LCS.

Infections à EV-A71

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 2024, après une année de plus forte circulation en 2023, seules 6 infections à EV-A71 ont été rapportées (contre 130 en 2023). Toutes ont été détectées à travers la surveillance hospitalière. Les patients étaient âgés de 10 jours à 7 ans.

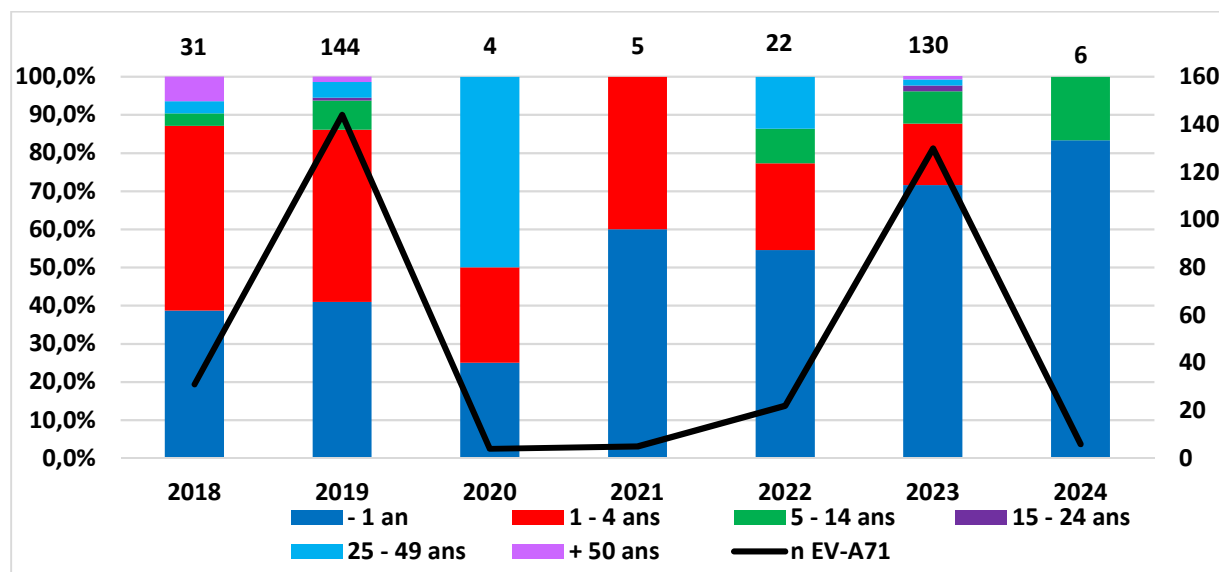


Figure 20. Nombre d'infections à EV-A71 et distribution par classe d'âge, 2018-2024

Des informations cliniques étaient disponibles pour tous les patients et tous ont été hospitalisés. Trois patients présentaient des tableaux neurologiques, dont 1 sévère avec une rhombencéphalite chez un enfant de 7 ans atteint d'un lymphome de Burkitt. Deux nourrissons de 1 et 16 mois ont présenté une fièvre associée à une irritabilité (n=2) et une maladie PMB (n=1). Un enfant de 1 mois a présenté une fièvre associée à des pauses respiratoires rapidement résolutive. Un nouveau-né de 10 jours a présenté une fièvre isolée. Enfin, un nourrisson de 16 mois a présenté un tableau dominé par des signes digestifs. Le LCS était positif, et l'EV-A71 identifié directement dans celui-ci, pour 3 patients dont celui avec une rhombencéphalite. Le lignage était connu pour 5/6 patients et il s'agissait du sous-génotype C1, variant 2015.

Infections à EV-D68

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 bulbaire 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 avaient été mises 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.

Entre 2012 et 2018, une augmentation bisannuelle des cas était décrite. Celle-ci a été modifiée par la mise en place des mesures barrière anti-COVID-19. En effet, pour la première fois, une circulation accrue de l'EV-D68 a été observée deux années consécutives en 2021 et 2022, cette observation pouvant être liée à la mise en place d'une surveillance renforcée en réponse aux alertes européenne (2021) ou américaine (2022).

L'année 2024 a été marquée par une épidémie de grande ampleur d'infections à EV-D68 avec un début de circulation précoce (Figure 21 et 22). La circulation de l'EV-D68 a débuté dès le mois de juin ce qui n'avait pas été observé en France depuis 2016. Cette circulation précoce a conduit le CNR à mettre en place une surveillance renforcée au niveau national entre le 1^{er} septembre et le 1^{er} novembre. Sur cette période, le CNR a demandé aux membres du RSE de leur envoyer les prélèvements respiratoires positifs en PCR RV/EV pour recherche spécifique d'EV-D68, en ciblant en particulier les cas sévères hospitalisés en réa/USC qu'ils soient respiratoires ou neurologiques. La forte mobilisation du RSE a permis la détection de 919 prélèvements positifs en EV-D68. Le pic de circulation observé en septembre a été plus précoce que les années antérieures où il apparaissait en octobre. Une circulation aussi importante d'EV-D68 n'avait jamais été mise en évidence auparavant en France. Habituellement, le nombre de cas d'EV-D68 est 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 2024, suite à l'alerte émise par le CNR, les membres du RSE ont envoyé plus systématiquement les prélèvements respiratoires pour recherche d'EV-D68 par rapport aux années antérieures. Il est donc difficile de comparer les données obtenues à l'échelle nationale pour l'année 2024 aux données des années antérieures. En revanche, les stratégies de recherche de l'EV-D68 du CHU de Lyon et de Clermont-Ferrand sont comparables d'une année sur l'autre. La stratégie adoptée au CHU de Lyon depuis 2021 est de réaliser au minimum le screening de tous les échantillons respiratoires prélevés chez les enfants de moins de 5 ans (sachant qu'en 2022 et en 2024 cette détection a été élargie aux moins de 10 ans) entre début Septembre et fin Novembre. Au CHU de Clermont-Ferrand, la recherche des EV/Rhino et le typage de tous les échantillons détectés positifs en EV/rhino (permettant d'identifier l'EV-D68) est réalisé toute l'année, lorsque les recherches de SARS-Grippe et VRS sont négatives ; une recherche systématique de l'EV-D68 par RT-PCR spécifique a également été réalisée lorsque la recherche de SARS-CoV-2 était négative sur la période entre le 01/06 et le 30/11/2024.

En 2024, au CHU de Lyon, la proportion de dossiers positifs en PCR EV-D68 chez les moins de 5 ans et sur la période de Septembre à Novembre était de 7,3% (80/1091 prélèvements du screening) vs 0,7% en 2023, 4,4% en 2022 et 4,3% en 2021. Elle était de 8% au CHU de Clermont-Fd, tout âge confondu, et de 12% chez les moins de 5 ans (contre 0% en 2023 et 1% en 2022). Ces chiffres mettent en évidence l'ampleur plus importante de la circulation d'EV-D68 de 2024 par rapport aux années précédentes.

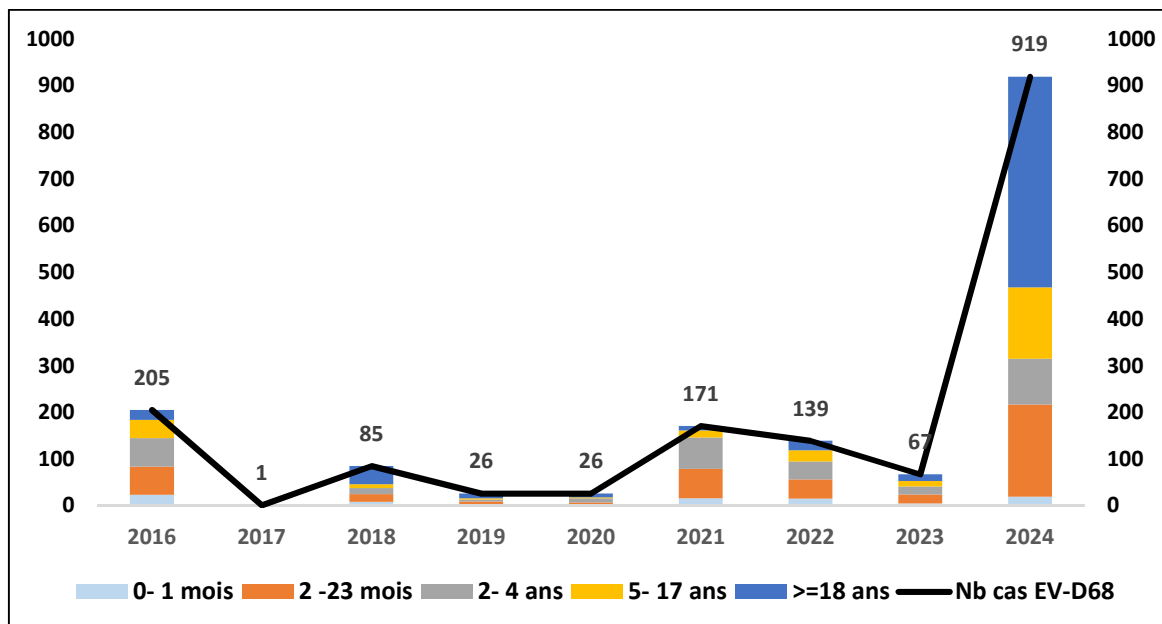


Figure 21. Répartition par tranche d'âge des infections à EV-D68, RSE, 2024

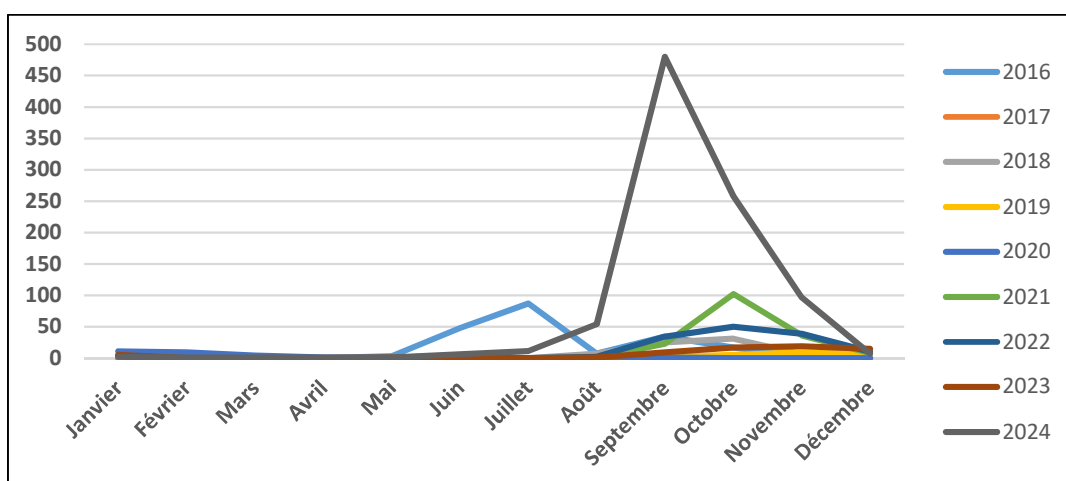


Figure 22. Distribution mensuelle des cas d'infections à EV-D68, RSE, 2106-2024

En 2024, seuls 37% des EV-D68 (264/721) séquencés appartenait au clade B3 (Tableau 27) alors que ce clade est majoritaire depuis 2016 en France et en Europe, à l'exception de l'année 2018 (51% des EV-D68 sous-typés appartenait au clade D1, majoritairement chez des adultes). Ceci s'explique en partie par la forte proportion d'adultes (49,1%) ayant présenté une infection à EV-D68 en 2024 et chez lesquels le clade D1 est majoritaire (69% des EV-D68 sous-typés).

Tableau 27 - Distribution des clades d'EV-D68, 2016-2024

Année	Nb de cas	% de souches typées	Clades identifiés
2016	205		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%)
2023	67	94,00%	B3 (75%) – D1(25%)
2024	919	79,0%	B3 (37%) – D1(63%)

La circulation accrue de l'EV-D68 en 2024 n'a pas été accompagnée d'un signal d'alerte émis par les cliniciens.

Les signes cliniques étaient disponibles pour 79% (727/919) des patients. Cinquante-quatre patients ont été exclus de l'analyse présentée dans le Tableau 29 : 38 patients pour lesquels il était rapporté des « signes cliniques respiratoires sans précision » et 16 dossiers pour lesquels l'imputabilité de l'EV-D68 dans le tableau clinique a été jugée peu probable.

Les présentations respiratoires étaient très largement majoritaires à la fois chez les enfants (n=330 soit 88,5%) et chez les adultes (n=275 soit 91,7%). Chez les enfants, les tableaux d'asthme ou de bronchiolite et les signes ORL bénins étaient prépondérants. Dans la population adulte, les signes ORL bénins étaient les tableaux les plus fréquents suivis des pneumopathies, des exacerbations d'asthme et de BPCO. Ces tableaux respiratoires étaient sévères chez 27,2% (n=90) des enfants et 22,9% (n=63) des adultes.

Bien que l'épidémie de 2024 ait été une épidémie de grande ampleur, peu de tableaux neurologiques ont été identifiés. Dans la population pédiatrique, 14 patients (3,8% contre 7,1% en 2021 et 8,2% en 2022) ont présenté un tableau neurologique dont deux états de mal épileptique et quatre encéphalites pour laquelle l'imputabilité de l'EV-D68 a été jugée possible (2 cas associés à la détection d'un autre pathogène et 2 cas avec détection isolée). Dans la population adulte, quatre tableaux neurologiques dont un déficit moteur avec paralysie faciale et trois Guillain-Barré ont été observés. Parmi les trois syndromes de Guillain-Barré, l'EV-D68 était le seul pathogène identifié dans deux cas (un patient transplanté cardiaque et un patient en précarité sociale) et dans le troisième cas la patiente présentait également une ré-activation CMV et une séroconversion à *Mycoplasma pneumoniae*.

Quelques atteintes cardiaques ont également été mises en évidence. Une myocardite et une décompensation cardio-respiratoire ont été observés chez des enfants. Quinze atteintes cardiaques ont été observées chez des adultes dont 11 décompensations cardio-respiratoires et 6 chocs cardio-vasculaires.

Un EV-D68 a été détecté chez neuf adultes décédés. L'imputabilité de l'EV-D68 dans ces décès a été jugée probable pour 4 de ces patients pour lesquels l'EV-D68 était le seul pathogène retrouvé (1 exacerbation de BPCO, 1 détresse respiratoire aiguë chez un patient encéphalopathe avec une insuffisance respiratoire chronique, 1 décompensation cardiaque et 1 décompensation cardio-vasculaire). Pour les cinq autres patients l'imputabilité de l'EV-D68 a été jugée possible devant la mise en évidence ou la forte suspicion de co-infection bactérienne (Tableau 26). Un EV-D68 a également été identifié chez deux enfants décédés d'une MIN avec une imputabilité de l'EV-D68 dans le tableau clinique classée possible en l'absence de renseignements cliniques.

Tableau 28 - Signes cliniques associés aux infections à EV-D68, RSE, 2024

Signes cliniques	Enfants (n=373/462)		Adultes (n=300/441)	
		%		%
Respiratoire	330	88,5%	275*	91,7%
<i>Asthme</i>	147	39,4%	33	11,0%
<i>ORL</i>	97	26,0%	80	26,7%
<i>Bronchiolite</i>	38	10,2%		0,0%
<i>Sd bronchique</i>	7	1,9%	22	7,3%
<i>Pneumopathie</i>	18	4,8%	53	17,7%
<i>Dyspnée</i>	8	2,1%	18	6,0%
<i>Syndrome brady-apnéique</i>	2	0,5%		0,0%
<i>Exacerbation BPCO</i>		0,0%	41	13,7%
<i>Décompensation respiratoire</i>	3	0,8%	1	0,3%
<i>Détresse respiratoire</i>	9	2,4%	19	6,3%
<i>Laryngite</i>	1	0,3%		0,0%
Neurologique	14	3,8%	5	1,7%
<i>Convulsions, clonies</i>	6	1,6%	1	0,3%
<i>Etat de mal</i>	2	0,5%		0,0%
<i>Myélite</i>		0,0%	1	0,3%
<i>Encéphalite</i>	4	1,1%		0,0%
<i>Hypotonie, irritabilité</i>	1	0,3%		0,0%
<i>Guillain-Barré, polyradiculonévrite</i>		0,0%	3	1,0%
<i>Méningite</i>	1	0,3%		0,0%
Cardiologique	2	0,5%	15	5,0%
<i>Décompensation cardiaque</i>		0,0%	3	1,0%
<i>Décompensation cardio-respiratoire</i>	1	0,3%	11	3,7%
<i>Myocardite</i>	1	0,3%		0,0%
<i>Choc cardiovasculaire</i>		0,0%	6	2,0%
Tableau fébrile isolé	10	2,7%	8	2,7%
Décès	2 (MSIN)	0,5%	9	3,0%
Découverte fortuite (sans signe clinique)	11	2,9%	14	4,7%

*les décompensations cardio-respiratoires sont décomptées dans le nombre total des signes respiratoires et des signes cardiaques

3.2.2. Surveillance 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 toutefois endémiques pour le WPV1 (Pakistan et Afghanistan) et le nombre de cas de poliomyélite dus à ce virus a augmenté de manière significative et préoccupante en 2024 (99 cas contre 12 en 2023). Depuis le milieu des années 2010, la majorité des cas de poliomyélite sont dus à des poliovirus dérivés de souches vaccinales et ayant recouvré un phénotype neurovirulent. Ces poliovirus, appelés VDPV (pour *vaccine-derived poliovirus*), émergent dans les zones où le vaccin polio oral (VPO) est utilisé mais où la couverture vaccinale n'est pas optimale. Les personnes vaccinées avec le VPO excrètent des poliovirus vaccinaux durant plusieurs semaines ; les virus excrétés peuvent alors infecter des personnes non-vaccinées et établir des chaînes de transmission suffisamment longues pour permettre aux virus de perdre les déterminants génétiques de l'atténuation. En 2024, les VDPV ont été responsables de 308 cas de poliomyélite (contre 529 en 2023). L'utilisation du nouveau vaccin oral nOPV2 (constitué d'une souche Sabin 2 génétiquement stabilisée) en réponse aux épidémies (1 milliard de doses administrées dans 35 pays depuis début 2021) permet progressivement de diminuer le nombre

de cas. Néanmoins, bien que ce vaccin soit génétiquement plus stable que le vaccin oral Sabin, quelques rares émergences de VDPV dérivés par double recombinaison du vaccin nOPV2 ont été détectées dans plusieurs pays d'Afrique centrale.

L'objectif d'éradication est mis en danger par l'extrême facilité avec laquelle les poliovirus diffusent. Leur diffusion est favorisée par de nombreux facteurs :

- la stabilité des particules infectieuses dans l'environnement ;
- le fait que les poliovirus sont transmis par l'eau : une personne peut être infectée par un poliovirus excrété à des dizaines de kilomètres du lieu de l'infection ;
- la longue durée d'excrétion des poliovirus, sauvages ou vaccinaux, par les personnes infectées (plusieurs semaines voire plusieurs mois) ;
- le fait que la majorité des infections à poliovirus sont a- ou pauci-symptomatiques.

Couplés à l'instabilité politique dans certains pays, aux phénomènes migratoires, à l'insuffisance de la surveillance et/ou de la couverture vaccinale dans certains pays, ces facteurs permettent l'importation de poliovirus, notamment dans les régions où la couverture vaccinale n'est pas optimale. Ainsi, un WPV1 a été importé du Pakistan au Malawi en 2021 et a circulé dans le pays causant plusieurs cas de poliomyélite avant de s'étendre au Mozambique en 2022. Toute l'Afrique intertropicale est ainsi considérée comme à risque d'importation et de diffusion de poliovirus. Les pays utilisant le vaccin polio injectable (VPI) ne sont pas à l'abri d'une diffusion puisque ce vaccin n'induit pas d'immunité muco-sale intestinale à même d'empêcher l'infection des personnes vaccinées. Le faible impact du VPI sur la circulation des poliovirus a notamment été démontré lors de l'importation d'un WPV1 en Israël en 2014. Malgré une couverture vaccinale de plus de 98 % dans le pays, cette souche a pu circuler durant 12 mois et n'a été éliminée que grâce à la réintroduction du VPO qui a été utilisé pour revacciner les enfants déjà vaccinés avec le VPI. L'année 2022 avait 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 cette même souche dans les eaux usées de Londres et de Tel Aviv. Ces 2 événements nous avaient rappelé que la réintroduction voire la circulation de poliovirus était possible dans des pays développés ayant éradiqué le virus depuis longtemps et présentant une bonne couverture vaccinale avec le VPI. Au cours du dernier quadrimestre 2024, 5 pays d'Europe (Allemagne, Espagne, Finlande, Pologne, Royaume-Uni) ont rapporté la détection récurrente de vDPV2 dans les eaux usées sans cas de poliomyélite associés. Dans ce contexte, l'ECDC a incité les pays membres à maintenir un niveau global de couverture vaccinale élevée en ciblant les zones ou populations susceptibles d'avoir une couverture vaccinale inférieure à 90%.

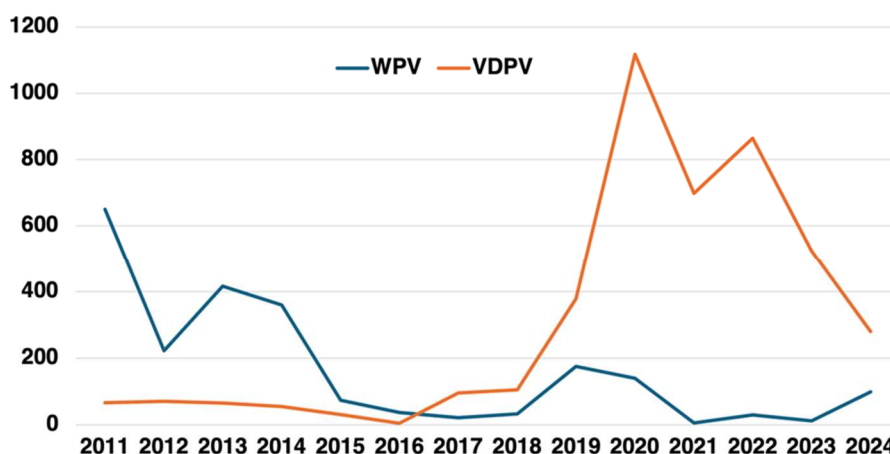


Figure 23. Nombre de cas de poliomyélite déclarés par l'OMS (2011-2024)

La surveillance humaine de la poliomyélite en France Métropolitaine est sous la responsabilité du laboratoire de Virologie du CHU de Lyon (LA L du CNR), intégré au dispositif international de surveillance de la poliomyélite piloté par l'OMS. Dans l'hypothèse de la détection d'une souche potentiellement neurovirulente, l'expertise du LA IP vient en renfort pour la caractérisation virologique et phénotypique complète des souches et pour la recherche de liens génétiques avec des souches isolées dans d'autres pays.

L'objectif 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. Cette surveillance viro-clinique 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)

2) la **recherche par PCR 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 patients immunodéprimés, des enfants adoptés ou des réfugiés venant de pays à risque avéré ou potentiel pour la circulation de poliovirus**

3) la recherche par PCR et culture de poliovirus en cas **d'exposition accidentelle au poliovirus** (personnels des laboratoires producteurs de vaccins polio essentiellement) (Figure 24).

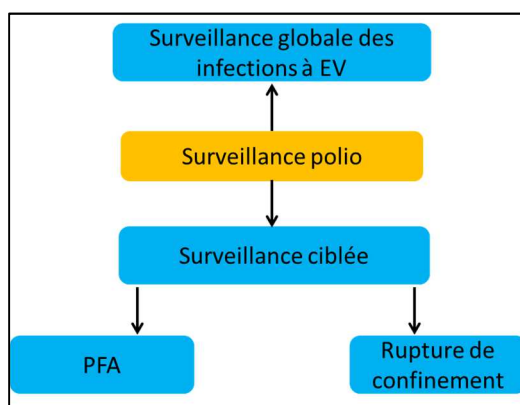


Figure 24. Organisation de la surveillance humaine de la poliomyélite en France Métropolitaine

En outre, depuis fin 2023, la surveillance virologique humaine a été étendue à certains Départements d'Outre-Mer, Mayotte et la Réunion, dont les liens avec Madagascar et les Comores peuvent faire craindre l'introduction de VDPV. Cette surveillance additionnelle repose sur l'analyse d'échantillons de selles prélevés chez des enfants de moins de 15 ans par le LA (pour la Réunion). Pour Mayotte, le contexte sanitaire et social, difficile, n'a pas permis de mettre en place cette surveillance additionnelle.

La majorité des infections à poliovirus étant inapparentes, la surveillance clinique ne permet pas toujours d'identifier rapidement l'introduction de poliovirus dans un territoire jusqu'alors indemne. C'est pourquoi l'OMS préconise la mise en place d'une surveillance environnementale de routine qui vise à rechercher des poliovirus dans les eaux usées.

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 résiduaires réalisés mensuellement dans les 6 principales stations d'épuration du Bassin parisien (bassin de population de 12 millions d'habitants). La technique mise en œuvre était proche de celle recommandée par l'OMS mais le laboratoire n'était pas accrédité par le Réseau mondial des laboratoires polio et il n'était pas évalué chaque année par un test de compétence. 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, au Royaume-Uni et en Israël, il a été décidé de développer les compétences nécessaires à la mise en place d'une surveillance environnementale. 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.

Cette étude implique le LA IP et des laboratoires partenaires. A la phase opérationnelle, la surveillance environnementale des poliovirus ferait appel aux réseaux de collecte déjà établis (Obépine, SUM'Eau, Eaux de Paris, ...)

Il est à noter que le principal écueil à la mise en place de la surveillance environnementale des poliovirus est la nécessité de recourir à l'isolement en cultures cellulaires, une étape qui ne peut pas être automatisée et qui demande un certain savoir-

faire. Plusieurs laboratoires polio travaillent à développer des techniques alternatives mais celles-ci n'ont jamais démontré une sensibilité identique à la technique actuelle. Il paraît donc illusoire de pouvoir disposer à court-terme d'une technique pouvant être mise en œuvre rapidement par n'importe quel laboratoire de diagnostic ou de surveillance.

En France, le dernier cas de poliomyélite autochtone remonte à 1989 et le dernier cas importé à 1995. **En 2024, un PV3 Sabin-like (comportant 6 substitutions nucléotidiques dans la VP1 par rapport à la souche Sabin) a été détecté par typage d'un échantillon de selles détecté positif en EV chez une patiente âgée de 6 mois hospitalisée en Octobre pour tableau convulsif et ayant séjourné durant l'été au Cameroun** (Tableau 29). Ce résultat a été communiqué à Santé publique France et les mesures de précaution autour du cas ont été mises en place (vérification du statut vaccinal de l'enfant et des personnes contact, absence d'immunodéprimés dans l'entourage). Un suivi de l'excrétion virale dans les selles avait été conseillé dans un contexte de drépanocytose (avec possible altération de la fonction splénique) mais n'a finalement pas été réalisé.

Par ailleurs, dans le contexte d'une exposition en secteur industriel, une salariée a été contaminée par du PV3 sauvage qu'elle a excrété pendant 4 mois (Tableau 30). Les circonstances de découverte et la gestion de l'alerte sont développées au chapitre 4.

Tableau 29 - Surveillance humaine de la poliomyélite, 2018-2024

	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
Nb LCS testés en PCREV	22282	22656	19385	22221	23960	23827	28910
Nb LCS positifs en PCREV	2126	1538	177	411	1000	1564	2175
Nb de dossiers patients avec EV identifié dans le LCS	1415	969	87	200	634	938	1157
Nb selles testées en PCR EV	7119	7368	5683	6619	7226	7553	7595
Nb selles positives en PCR EV	482	553	112	207	408	575	559
Nb de dossiers patients avec EV identifié dans les selles	281	332	45	125	304	371	354
Nb de dossiers patients avec PV identifié	0	0	1 ^a	0	0	1 ^b	1 ^c
Recherche ciblée de poliovirus (tableaux de PFA, enfants immunodéprimés, enfants adoptés ou réfugiés) (notion pays à risque)							
Nb total patients analysés	74	1	1	3	3	3	12
Nb patients détectés EV+	9	1	0	0	0	0	10
Nb patients EV+ typés	7	1	0	0	0	0	7
Nb patients PV+	0	0	0	0	0	0	0
Recherche ciblée de poliovirus chez des personnels exposés accidentellement au poliovirus							
Type de virus	WPV1^d/OPV3^e	WPV3	OPV2	WPV3/WPV1	RAS^g	RAS^g	WPV2/WPV3
Niveau d'exposition	Faible/ intermédiaire ^f	Faible	Intermédiaire	Faible/ intermédiaire ^f			Faible/Elevé
Nb personnels testés	2 /6	1	1	2/2			1/1+conjoint
Nb échantillons testés	6/17	3	6	2/25			21/27+12
Nb personnels PV+	0/1	0	0	0/0			0/1+0
Nb échantillons PV+ (PCR et/ou culture)	0/3	0	0	0/0			0/17+0

^a Identification d'un PV1 Sabin-like dans l'échantillon naso-pharyngé d'une patiente avec déficit moteur du membre supérieur gauche et ayant été au contact d'un cousin vacciné récemment par le vaccin bivalent oral; ^b Identification d'un iVDPV3 dans les selles d'un patient vacciné par le vaccin bivalent oral et présentant un déficit immunitaire congénital; ^c Identification d'un PV3 Sabin-like dans les selles d'une enfant hospitalisée pour un tableau de convulsions et ayant séjourné au Cameroun; ^d WPV : wild-type poliovirus; ^e : OPV: oral poliovirus vaccine; ^f : survenue de 2 incidents en 2018, 2021 et 2024; ^g Aucun incident d'exposition en 2022 et 2023

3.2.3. Surveillance des infections à parechovirus en France métropolitaine

Diagnostic

En 2024, 27 laboratoires du RSE ont réalisé le diagnostic des infections à HPeV (stable depuis 2021) (Tableau 30). Par ailleurs, 13 laboratoires d'un réseau de 118 laboratoires contactés par le LC via le Collège de Bactériologie-Virologie ont rapporté 28 infections à HPeV. Au total, sur la base des données transmises, **40362 échantillons ont été analysés et 233 infections à HPeV diagnostiquées.**

Tableau 30 - Diagnostic des infections à HPeV en 2024

Laboratoires réalisant le diagnostic HPEV	Nb total échantillons testés	Nb dossiers patients positifs	Technique(s) diagnostique(s) utilisées
06_CHU Nice	680	11	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel, AltoStar® EV&RV&HPeV kit
13_CHU Marseille	14251	14	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel, RT-PCR en temps réel maison® , Fast Track Respiratory Pathogens 33, Bosphore Respiratory Pathogens kit
14_CHU Caen	863	4	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
21_CHU Dijon	894	7	Parechovirus R-GENE®, FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
25_CHU Besançon	689	3	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
29_CHU Brest	73	3	Parechovirus R-GENE®
31_CHU Toulouse	Données non transmises	Données non transmises	AltoStar® EV&RV&HPeV kit
33_CHU Bordeaux	412	2	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
34_CHU Montpellier	Données non transmises	Données non transmises	Progenie EV/HPEV
35_CHU Rennes	795	11	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel, Parechovirus r-GENE®
37_CHU Tours	249	3	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
38_CHU Grenoble	Données non transmises	5	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
42_CH Roanne	103	4	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
42_CHU St Etienne	624	4	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
44_CHU Nantes	10625	25	RT-PCR temps réel EV/HPeV maison, FTD Respiratory pathogens 21
45_CHU Orléans	799	8	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
49_CHU Angers	229	1	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
59_CHU Lille	183	10	Parechovirus R-GENE®
63_CHU Clermont-Ferrand	236	4	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel, Parechovirus r-GENE®
64_CH Bayonne	107	0	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
69_CHU Lyon	3171	21 ^a	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel ; Parechovirus r-GENE®
XX_CHU Lyon pour labos ext	Données non transmises	19 ^b	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
75_AP-HP St Antoine	1194	16	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel, Parechovirus r-GENE®
75_AP-HP Necker	827	10	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel, Parechovirus r-GENE®
76_CHU Rouen	1656	5	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
78_CH Versailles	158	8	Parechovirus r-GENE®
80_CHU Amiens	1354	5	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel
83_CHI Toulon	190	2	QIAstat-Dx meningitis/encephalitis panel
99_Laboratoires divers ^c	Données non transmises	28 ^b	FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel, Parechovirus r-GENE®, QIAstat-Dx meningitis/encephalitis panel
TOTAL	40362	233	

^a dont 2 pour des patients de CH extérieurs (CHU Grenoble (38) et CH de Vienne (38) ; ^b 19 dossiers positifs diagnostiqués dans des CH/CHU extérieurs au RSE et transmis pour typage au LA L ; ^c 28 dossiers positifs diagnostiqués par 13 laboratoires dont 3 transmis pour typage au LC

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 criblage des infections à HPeV à d'autres tranches d'âge, même si de nombreuses études ont montré que le diagnostic était indiqué principalement chez les nouveau-nés et nourrissons de moins de 3 mois. 23 laboratoires ne participant pas au RSE ont également transmis des échantillons pour le diagnostic des infections à HPeV aux laboratoires du CNR.

Données de la surveillance

En 2024, 147 infections à HPeV ont été rapportées (147/233, 63% contre 60/80, 75% en 2023) sur le site de la surveillance par les laboratoires du RSE. La répartition mensuelle des cas est présentée en Figure 25 avec 2 pics de circulation en été et en automne.

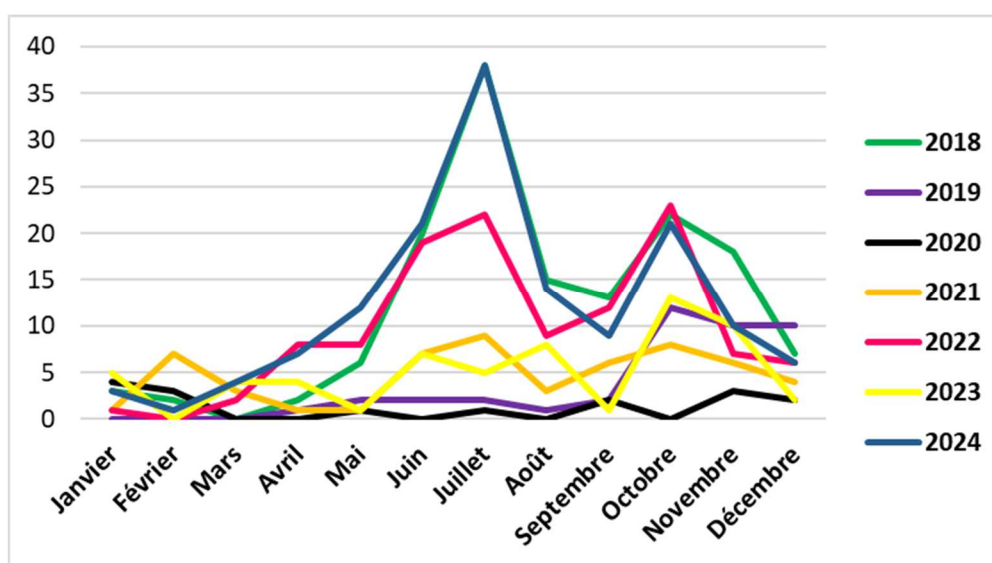


Figure 25. Distribution mensuelle des infections à parechovirus, 2018-2024

Les infections ont été diagnostiquées exclusivement en pédiatrie et plus particulièrement chez les enfants de moins de 3 mois (130/147, 88,4%). Au total, 84 % des infections à HPeV ont été diagnostiquées à partir du LCS, la majorité des trousseaux étant validées sur cette matrice. La recherche des HPeV dans le sang (2 cas) ou des échantillons de selles ou respiratoires (21 cas) a permis le diagnostic de l'infection pour 23 enfants supplémentaires.

Les signes cliniques étaient disponibles pour 81 % (119/147) des dossiers pédiatriques déclarés. Hormis un dossier imputable à une septicémie à pneumocoque et une découverte fortuite, l'imputabilité du HPeV a été jugée probable (détection dans le LCS ou le sang) ou possible (détection dans les selles et/ou des échantillons respiratoires). Les tableaux fébriles du nourrisson étaient les plus fréquents associés ou non à des signes neurologiques dominés par une irritabilité (Tableau 31). Des tableaux cliniques sévères ont été rapportés chez 11/147 (7,5%) patients. Quatre enfants âgés de 9 à 25 jours ont présenté des tableaux de sepsis sévères ayant requis 3 remplissages sans administration d'amines. Quatre enfants âgés de 8 jours à 1 mois ont présenté des tableaux neurologiques sévères (2 états de mal épileptique et 2 tableaux de méningo-encéphalites). Deux enfants ont présenté des tableaux de détresse respiratoire ayant requis l'administration d'oxygène haut-débit pendant au moins 48h. Enfin, une infection à HPeV (détection dans les selles, un prélèvement naso-pharyngé et une biopsie hépatique) a été détectée chez un enfant de 1 an décédé d'une MIN au décours d'un tableau de rhinite. L'imputabilité a été jugée possible sachant qu'un rhinovirus a également été détecté dans les selles et l'échantillon naso-pharyngé.

Tableau 31. Signes cliniques associés aux infections pédiatriques à parechovirus, 2024 (n=119)

Signes cliniques	Patients n=119 (%)
Fièvre	110 (92,4%)
Signes neurologiques, dont	78 (65,5%)
Irritabilité	68 (57,1%)
Hypotonie	17 (14,3%)
Convulsions	4 (3,4%)
Encéphalite	2 (1,7%)
Signes cardio-vasculaires	14 (11,8%)
Sepsis	14 (11,8%)
Signes respiratoires	23 (19,3%)
dont détresse respiratoire	3 (2,5%)
Signes cutanéomuqueux	11 (9,2%)
Signes digestifs	19 (16%)

Typage moléculaire

Le typage moléculaire a été réalisé pour 123/147 (83,7%) des dossiers pédiatriques déclarés (contre 66% en 2023) et a permis l'identification du HPeV pour 118/147 (80,3%) des dossiers déclarés. Le HPeV-3 était prédominant (Figure 26).

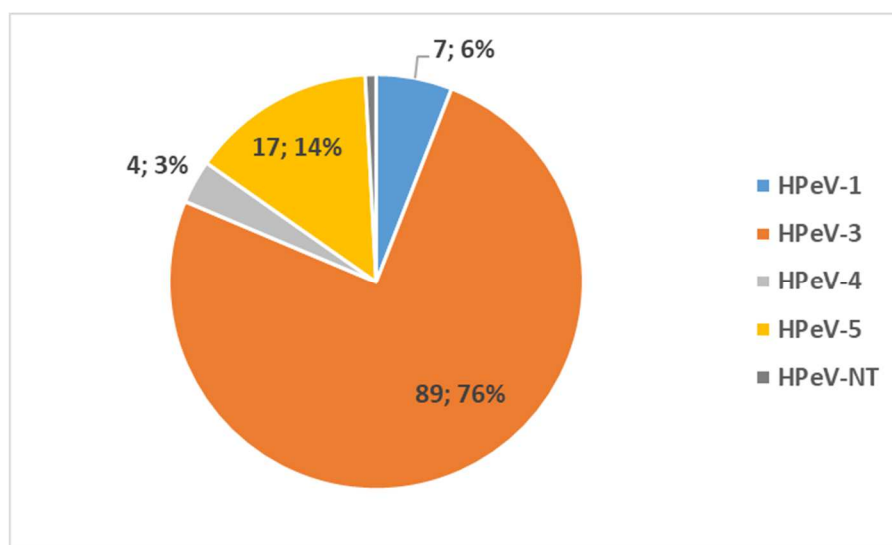


Figure 26. Distribution des types associés aux infections à HPeV rapportées par le RSE, 2024

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

Depuis 2024, un effort de renforcement de la surveillance des infections à EV a été initié dans certains départements et territoires ultra-marins (Réunion, Polynésie, Nouvelle Calédonie, pour le LA L ; Mayotte, Guadeloupe et Martinique, pour le LC) avec comme objectifs l'envoi plus systématique des prélèvements positifs en EV pour typage et si possible la communication des données épidémiologiques globales.

Ainsi, depuis janvier 2024, un screening a été mis en place sur les selles d'enfants de moins de 5 ans hospitalisés au CHU de la Réunion avec un objectif d'environ 300-500 selles/an afin de détecter d'éventuels poliovirus sporadiques ou circulants (risque d'importation de VDPV en lien avec les déplacements de personnes entre La Réunion et/ou Mayotte, les Comores et/ou Madagascar). Ceci n'a pas pu être mis en place en 2024 à Mayotte du fait d'un contexte sanitaire et social difficile. Concernant la Guyane, les contacts pris suite à la détection de VDPV dans les eaux usées n'ont pas abouti à la mise en place effective de la surveillance. Le laboratoire du CH de Cayenne avait comme projet de mettre en place le diagnostic des infections à EV sur site ; des échantillons positifs lui ont été envoyés pour la validation de la trousse. Cependant, le circuit d'envoi des prélèvements vers le CNR reste encore à définir. Les biologistes des Antilles n'ont pour l'instant pas mis en place de circuit d'envoi régulier d'échantillons cliniques vers le CNR.

La Réunion

Des données épidémiologiques globales ont été communiquées. Au total, 960 LCS ont été testés en PCR EV dont 30 (3,1%) ont été détectés positifs. Par ailleurs, 2 LCS étaient positifs en PCR Parechovirus (dont un typé HPeV-3 par le LA L).

Vingt-et-un LCS collectés entre Janvier et Décembre 2024 aux CHU de St Denis et St Pierre et détectés positifs en PCR EV ont été reçus pour typage. Au total, 11/21 (52,4% contre 84,4% en 2023) ont pu être typés. Un problème de conservation des LCS pourrait en partie expliquer les échecs de typage (étant donné que la performance globale de typage était de 92,3% sur les autres LCS adressés par le RSE). Tous les EV identifiés étaient des EVB sans type majoritaire (E18 (n=2) ; E25 (n=2), CVA9, E6, E7, E9, E14, E15, E30). Un E9 a été identifié dans le LCS d'un bébé de 25 jours, ancien prématuré, ayant présenté des signes de choc cardio-vasculaire dans un contexte de pyélonéphrite concomitante.

Dans le contexte de l'appel au renforcement de la détection des infections à EV-D68 lancé en Septembre 2024, 8 échantillons respiratoires de patients hospitalisés en réanimation, soins intensifs ou pneumologie et collectés entre le 23 Juillet et le 10 Novembre ont été adressés au LA L pour typage. Il s'agissait de 3 dossiers pédiatriques (dont une bronchiolite et un asthme sévère) et de 5 dossiers d'adultes avec signes cliniques respiratoires (dont un tableau d'asthme sévère). Dans tous les échantillons a été détecté un EV-D68 D1 dont les séquences étaient très proches génétiquement des séquences de France Métropolitaine.

Concernant le screening des selles, 5 séries d'échantillons ont été adressées au laboratoire pour détection d'EV par PCR et typage des échantillons positifs.

Au 08 Avril 2025, 118 selles de 106 patients, collectées entre Janvier et Mars 2024, ont été analysées. Les échantillons des 3 séries reçues en Octobre et Décembre 2024 sont en cours d'analyse. Au total, 28 dossiers patients (26.4%) ont été détectés positifs avec la technique Enterovirus-gene. Parmi ces 28 échantillons, 24 (85,7%) ont pu être typés dont 18 contenaient des EV (Figure 27). Aucun PV n'a été détecté.

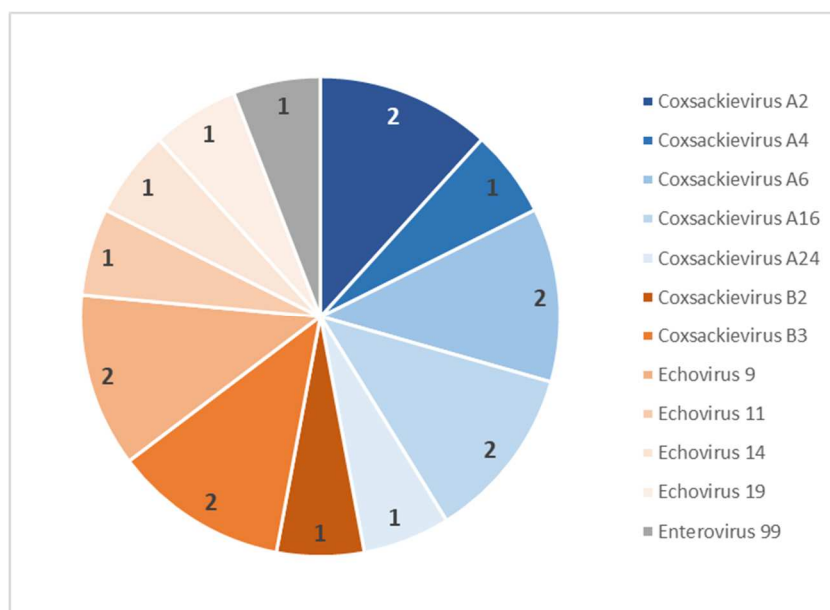


Figure 27. Types d'EV identifiés dans les échantillons de selles de la Réunion, Janvier-Mars 2024

Nouvelle Calédonie

Six échantillons (de 6 dossiers patients) collectés en 2024 ont été reçus pour typage. Deux LCR (E9 ; n=2) sans renseignements cliniques, 1 échantillon de selles (Rhinovirus C) et 3 échantillons respiratoires (EV-D68 B3 ; n=2 et Rhinovirus A). Les EV-D68 B3 étaient associés à un tableau de bronchiolite et un cas de MIN au décours d'un tableau ORL (association avec un Rhinovirus C).

Polynésie

Quatre échantillons (de 4 dossiers patients) collectés en 2024 ont été reçus pour typage. Un LCR dans un contexte de syndrome méningé (E7), un échantillon sanguin dans un contexte de PMB (CVA6) et deux échantillons naso-pharyngés associés à des tableaux respiratoires (Rhinovirus A ; n=2)

Guadeloupe

Quatre échantillons dont 3 LCS et un prélèvement pharyngé, prélevés en 2024, ont été analysés pour des patients de 18 jours à 3 ans présentant des tableaux neurologiques : E6, CVB3 et CVA9 (n=1, chaque) ; typage impossible pour le dernier patient.

Mayotte

Dix-neuf échantillons positifs et prélevés en janvier 2024 dans le cadre de l'investigation d'une épidémie de conjonctivite hémorragiques ont été analysés. Il s'agissait d'un CVA24 variant pour 18/19 patients âgés de 23 mois à 70 ans. La souche appartenait à une autre lignée que celle responsable de l'épidémie de conjonctivite hémorragique sévissant en Asie depuis 2022.

Un criblage des selles d'enfants aurait dû être mis en place à partir de 2024, en regard du risque d'importation de poliovirus. Malheureusement, la situation sanitaire (crise hydrique) associée à un contexte social difficile a rendu impossible une surveillance renforcée des infections à EV à Mayotte.

3.3. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

3.3.1. Surveillance nationale

Echanges avec Santé publique France

Plusieurs échanges ont eu lieu en 2024, notamment avec Laura Zanetti qui est notre interlocutrice à Santé publique France, selon des modalités rediscutées au début du nouveau mandat. Il s'agit de signaler tout signal jugé anormal au regard de la surveillance : recrudescence anormalement élevée ou précoce de certains types d'EV, augmentation inhabituelle de tableaux cliniques sévères signalée par le RSE ou des cliniciens.

- **Partage de données** : Accès de Laura Zanetti au site web du CNR (données d'activité, données cliniques et virologiques)
- **Signalement d'informations relatives à une recrudescence d'infections à certains types d'EV (EV-D68 – Cf Chapitre 4), de détection de poliovirus via la surveillance humaine ou des eaux usées (Cf chapitre 3.2, 4.2 et 5.2).**
- **Bulletin de rétro-information à destination des laboratoires du RSE et disponible sur le site de Santé publique France.** Ce bulletin, élaboré conjointement par le CNR et Santé publique France, a été diffusé le 23/07/2024.

Réseau de surveillance des eaux usées

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 8 stations d'épuration du Puy-de-Dôme à partir de 2020. Profitant de l'échantillonnage réalisé, le laboratoire a mis en place la surveillance des entérovirus depuis 2021.

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).

ENPEN

Depuis 2017, le CNR EV-PeV fait partie du réseau européen de surveillance des infections à EV non poliomyélitiques, ENPEN (*European Non Polio Network*). La participation aux études collaboratives proposées au niveau européen est discutée au coup par coup entre les membres du CNR et du réseau RSE. Il s'agit d'études clinico-virologiques (échanges de données agrégées) ou phylogénétiques (avec transfert de souches et/ou de séquences génomiques).

Groupe de travail sur les myélites flasques aiguës

Un groupe de travail sur les myélites flasques aiguës (AFM Working Group) a été créé en Amérique du Nord en septembre 2018 en réponse à l'émergence de la myélite flasque aiguë (MFA), entité clinico-radiologique proche de la poliomyélite, en lien avec les épidémies bisannuelles d'EV-D68 au cours desquelles une augmentation des MFA est observée. 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 périodiques de l'AFM working group.

Centre collaborateur Polio de l'OMS

Le laboratoire de Virologie de Lyon, en tant que Centre Collaborateur Polio de l'OMS, transmet depuis novembre 2019 les 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.

Réseau mondial des laboratoires polio coordonnés par l'OMS

Le LA IP est l'un des 6 laboratoires experts du Réseau mondial des laboratoires polio coordonné par l'OMS. Il reçoit des poliovirus provenant d'échantillons cliniques et environnementaux pour caractérisation génétique. A ce titre, il a reçu en 2024 69 échantillons adressés par le laboratoire polio d'Algérie et 12 échantillons adressés par le labo polio de République Centrafricaine. Les résultats ont été transmis aux autorités locales et à l'OMS selon le schéma du Réseau mondial des laboratoires polio.

Maël Bessaud est membre du groupe de travail de l'OMS (Ad-hoc Small Working Group) chargé de définir la politique de détection et de caractérisation des poliovirus par les laboratoires du Réseau mondial des laboratoires polio. Il a participé à l'ensemble des réunions de ce groupe (une quinzaine par an).

3.4. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

3.4.1. Investigations virologiques d'une épidémie précoce de méningites et d'ampleur inhabituelle au CHU de Brest

En 2024, le CHU de Brest a rapporté une épidémie de méningites inhabituellement précoce pour la région et par rapport aux méningites rapportées par le RSE (Figure 28). 70% des cas sont survenus entre la semaine 7 et la semaine 21 avec un pic en semaine 16. L'épidémie était d'ampleur inhabituelle pour le Finistère Nord (110 cas en 2024 contre 57 en 2023 et 27 en 2022). 44% des patients concernés étaient des adultes (>15 ans) contre 31% pour les autres cas de méningites déclarés par le RSE. Des tableaux de céphalées très douloureuses ont été rapportés avec recours à la morphine chez 25% des patients. Cette épidémie a été très majoritairement causée par de l'E9 (67/106, 63%) alors que l'E9 représentait seulement 13% des types identifiés à partir des LCR des autres patients. L'analyse phylogénétique des séquences françaises 1D^{VP1} de 2018-2024 réalisée au CHU de Lyon (plateforme Genepii) montre que les séquences de 2024 Brestoises forment un unique cluster (à l'exception de 3 séquences) distinct et distant génétiquement des séquences d'E9 identifiées majoritairement en 2023. L'analyse d'échantillons digestifs d'huîtres de la rade de Brest testés sur la période Février-Juillet 2024 n'a pas détecté d'EV. Un travail de thèse est en cours dont les objectifs sont présentés dans le chapitre 6.1.

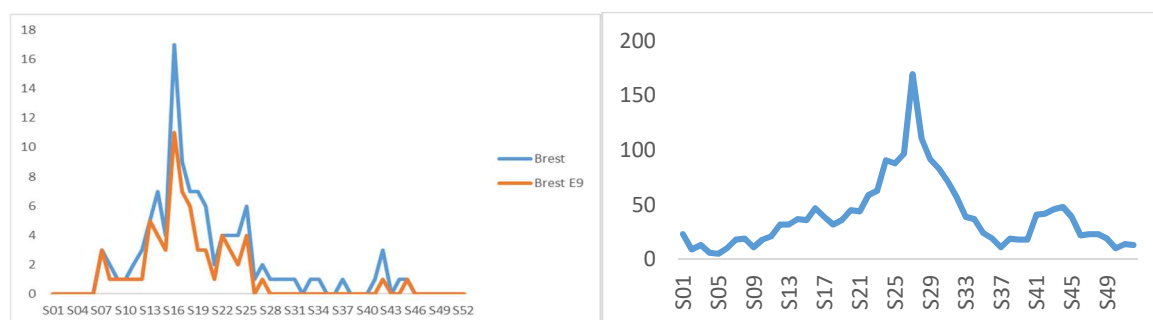


Figure 28. Distribution hebdomadaire des patients avec LCR positif en EV, 2024

A gauche, patients du CHU de Brest et à droite autres patients déclarés par le RSE

Tableau 32. Prévalence de l'E9 chez les patients avec détection d'un EV dans le LCS, 2023-2024

	2023	2024
Brest	8/54 (15%)	67/106 (63%)
RSE sauf Brest	315/991 (32%)	94/1150 (8%)

3.4.2 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 (GAP III puis GAP IV) a été élaboré par l'OMS, visant à réduire au maximum le risque d'exposition aux poliovirus neuro-virulents notamment dans les établissements détenant ou produisant des quantités importantes de virus (laboratoires producteurs de vaccins, laboratoires de recherche). Pour les personnels risquant d'être exposés, il est recommandé de vérifier que les titres en anticorps anti-poliovirus sont protecteurs. Depuis janvier 2019, le LA L 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 Neuville, France). Depuis octobre 2022, il assure également le suivi d'une partie des personnels du plus grand site de production de vaccin polio du groupe GSK (site de Wavre, Belgique). Enfin, il contrôle les sérologies polio des personnels du LA IP et du LA L et des personnels travaillant dans le L3 partagé avec le LA L (Tableau 33).

Tableau 33 - Bilan des sérologies polio réalisées de 2019 à 2024 dans le cadre des plans GAP III et IV

	SANOFI	GSK	LA IP	LA LYON/IAI
2019	776		5	18
2020	739	55	1	1
2021	848		0	4
2022	729	48	0	18
2023	648	248	7	8
2024	653	249	0	19

IAI : Institut des Agents Infectieux

3.4.3. Suivi de l'immunité anti-polio au CHU de Lyon

Comme les années précédentes, des sérologies poliovirus ont été réalisées principalement chez des patients pédiatriques. L'immunité anti-poliovirus a notamment 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 (N=154 patients) et dans le cadre de bilans de suivi de transplantation hépatique (N=127 patients). Au total, 338 sérologies ont été réalisées en 2024.

3.4.4. Suivi de l'immunité anti-polio hors CHU de Lyon

Vingt-huit sérologies ont été réalisées pour d'autres CH/CHU (Chambéry : 2 ; Rennes : 1 ; Valence : 29 ; Vienne : 2) dans des contextes cliniques similaires à ceux précisés en 3.2.3.

3.4.5. Surveillance environnementale durant les Jeux Olympiques et paralympiques 2024

A l'occasion des jeux olympiques & paralympiques de Paris 2024, une surveillance de plusieurs pathogènes basée sur les eaux usées a été mise en place en Île-de-France [Toro L, de Valk H, Zanetti L, Huot C, Tarantola A, Fournet N, Moulin L, Atoui A, Gassilloud B, Mouly D, Jourdain F. Pathogen prioritisation for wastewater surveillance ahead of the Paris 2024 Olympic and Paralympic Games, France. Euro Surveill. 2024 Jul;29(28):2400231. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.28.2400231]. Dans ce contexte, le LA IP a reçu 16 échantillons d'eaux usées qui ont été analysés selon l'algorithme standard de l'OMS (concentration, inoculation de deux lignées cellulaires). Aucun poliovirus n'a été détecté dans ces échantillons.

Tableau 34. Provenance des échantillons analysés à l'occasion des Jeux olympiques & paralympiques.

Collecteurs	Date de collecte	Collecteurs	Date de collecte	Collecteurs	Date de collecte
Asnières	09/07/2024	Clichy	16/07/2024	Asnières	29/07/2024
Marceau	09/07/2024	Asnières	23/07/2024	Nord	29/07/2024
Nord	09/07/2024	Marceau	23/07/2024		
Clichy	09/07/2024	Nord	23/07/2024		
Asnières	16/07/2024	Clichy	23/07/2024		
Marceau	16/07/2024	STEU BMAV	28/07/2024		
Nord	16/07/2024	Clichy	29/07/2024		

3.4.6. Investigations virologiques d'une épidémie de conjonctivites hémorragiques à EV à Mayotte

La conjonctivite hémorragique aiguë (AHC) est une maladie virale très contagieuse et épidémique caractérisée par l'apparition soudaine d'une douleur oculaire, d'un gonflement, d'une sensation de corps étranger oculaire, d'un écoulement oculaire et d'une hémorragie sous-conjonctivale. De grandes épidémies d'AHC causées par des entérovirus (EV) et des adénovirus se produisent régulièrement dans les régions tropicales et subtropicales. Parmi les EV, le coxsackievirus A24 variant (CVA24v) est considérée comme le principal agent étiologique de l'AHC avec un potentiel pandémique. Une épidémie d'AHC à EV est survenue début 2024 pendant la saison des pluies à Mayotte et à Madagascar, dans un contexte d'épidémies d'AHC en Asie depuis 2022.

Le 12 janvier 2024, un cluster de cas d'AHC dans une structure militaire encadrant des volontaires mahorais de 18 à 25 ans a été signalé aux autorités sanitaires de Mayotte. L'épidémie a également été observée dans la population générale et a rapidement mobilisé les réseaux sentinelles existants, à savoir les médecins généralistes, les pharmaciens communautaires et les dispensaires scolaires. Les données recueillies ont conduit les autorités sanitaires locales de Mayotte à diffuser un bulletin d'information le 24 janvier 2024.

A Madagascar, une épidémie d'AHC a également été observée de S1 à S14, avec un pic en S3. Elle a débuté dans la ville de Mahajanga, sur la côte nord-ouest, et s'est rapidement propagée dans tout le pays. Des épidémies ont également été rapportées dans de nombreux pays africains bordant l'océan indien : Malawi, Tanzanie, Mozambique et Kenya.

Le laboratoire du CH de Mayotte a rapidement identifié les EV, comme étiologie de cette épidémie. Dix-sept échantillons positifs et neuf échantillons négatifs pour la recherche d'EV ont été envoyés au LC du CNR pour confirmation et génotypage. L'utilisation du séquençage avec la technologie Minlon (Oxford Nanopore) a permis d'identifier l'EV en cause en 48h après réception des échantillons au CNR.

Au total, 19 échantillons positifs ont été séquencés et un CVA24 variant était identifié ; la souche appartenait au sous-génotype IV qui regroupe toutes les souches responsables des épidémies depuis 2000. Le génome complet a été déterminé pour 8 échantillons. L'analyse des séquences obtenues avec les séquences partielles disponibles dans les banques de données et celles réalisées à l'Institut Pasteur de Madagascar a mis en évidence une parenté génétique des séquences de Mayotte et de Madagascar avec des séquences issues d'échantillons collectés au Kenya en mars 2024. La souche responsable de l'épidémie était distante de celle responsable des épidémies rapportées en Asie depuis 2022. De plus, l'analyse des génomes complets a suggéré l'origine recombinante de la souche épidémique (article en révision, *Emerging Microbes and Infection*).

4. Alertes

4.1. Infections à EV non poliomyélitiques

Aucune alerte n'a été lancée en France métropolitaine. Cependant, certains événements ont été portés à la connaissance de Santé publique France et au RSE.

4.1.1. Recrudescence des infections à EV-D68

- **16/09/2024** : Signalement à Santé publique France d'une circulation précoce de l'EV-D68 en France Métropolitaine sans recrudescence de tableaux respiratoires ou neurologiques sévères. Premier cas de la nouvelle vague détectée dès le 05 Juin témoignant d'une circulation précoce comme en 2016. Au 16/09, signalement de 21 cas dont 3 associés à des tableaux cliniques sévères (myocardite, décès brutal avec œdème pulmonaire et œdème cérébral avec co-infection par *B.pertussis*, encéphalite avec co-infection par un adenovirus)

- **17/09/2024** : un mail d'information a été envoyé au RSE de façon à 1/ savoir s'ils avaient observé une recrudescence des infections respiratoires à RV-EV, 2/ évaluer l'ampleur de la circulation de ce virus en leur demandant de transmettre des échantillons positifs de patients admis en réanimation ou en soins continus et 3/ re-sensibiliser les membres du RSE à la possibilité d'une recrudescence d'atteintes neurologiques sévères de type myélite flasque aiguë, en rappelant la démarche diagnostique et en demandant le signalement de toute atteinte sévère associée à une infection à EV-D68 ou autre EV.

Au total, 911 cas ont été détectés entre Juin et Décembre 2024. Les caractéristiques épidémiologiques virologiques et cliniques sont décrites dans le chapitre 3.2.

4.1.2. Epidémies de conjonctivites hémorragiques à Mayotte – Janvier 2024

- **16/01/2024** : Signalement à Santé publique France de l'investigation virologique d'une épidémie de conjonctivite hémorragique à Mayotte, à la demande de l'ARS Mayotte.

- **13/02/2024** : Communication des résultats obtenus sur les échantillons reçus et identification d'un CVA24 variant.

Au total, 19 échantillons positifs ont été séquencés et un CVA24 variant était identifié ; la souche appartenait au sous-génotype IV qui regroupe toutes les souches responsables des épidémies depuis 2000. L'analyse des génomes complets a suggéré l'origine recombinante de la souche épidémique.

4.1.3. Cluster de formes sévères d'infections à RV-EV chez six enfants suivis pour cardiopathie – Rouen, 2024

- **21/06/2024** : Alerte de pédiatres et cardio-pédiatres de Rouen sur des cas groupés de décompensation cardiaque grave au décours d'infection à EV/RV chez des patients avec cardiopathie sous-jacente. Information relayée en temps réel par le LA L à Santé Publique France et au LC. Au total, 6 cas hospitalisés depuis fin Mai au CHU de Rouen et d'évolution rapidement péjorative (4 patients sur 6 en réanimation et 1 décès).

05/07/2024 : Bilan définitif des résultats communiqué au CHU de Rouen et à Santé Publique.

Au total, 6 échantillons respiratoires des 6 patients ont été expertisés. Le séquençage a permis l'identification de 6 rhinovirus différents (4 Rhinovirus A et 2 Rhinovirus C) dans un contexte de forte circulation des Rhinovirus en France Métropolitaine et a exclu l'imputabilité d'un EV-D68.

4.2. Poliovirus

4.2.1. Surveillance environnementale à Mayotte (janvier 2024)

Dans un contexte de sécheresse importante entraînant un accès limité à l'eau potable à Mayotte, une collecte hebdomadaire d'eaux usées a été mise en place au niveau de deux stations de traitement des eaux usées de l'île (Mamoudzou et Dembeni) à partir de septembre 2023. Ces collectes se sont poursuivies jusqu'en janvier 2024, mois durant lequel trois échantillons ont été reçus par le LA IP et analysés selon l'algorithme standard de l'OMS (concentration, inoculation de deux lignées cellulaires et caractérisation moléculaire des poliovirus le cas échéant). Un poliovirus a été détecté dans l'un des échantillons (10 janvier 2024, Mamoudzou). Le séquençage de la région VP1 a permis de classer ce poliovirus comme un Sabin-like 3 (dérivé de la souche vaccinale de type 3 présentant un faible nombre de mutations). Les résultats de la surveillance effectuée à Mayotte entre septembre 2023 et janvier 2024 ont été communiqués à Santé publique France, l'ARS Mayotte et à l'OMS.

La recherche d'entérovirus non-polio dans ces trois échantillons a révélé la présence de 6 types viraux appartenant aux espèces EV-B et EV-C.

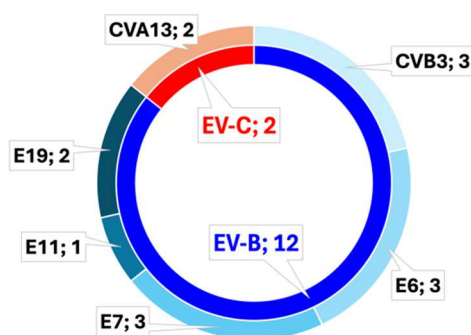


Figure 29. Types d'entérovirus détectés dans les eaux usées collectées à Mayotte en janvier 2024.

4.2.2. Détection de VDPV3 en Guyane française

Dans le cadre d'un projet de recherche collaboratif visant à renforcer les capacités de surveillance environnementale en France, le LA IP a reçu des reliquats d'échantillons d'eaux usées initialement reçus par l'Institut Pasteur de la Guyane, Cayenne, pour des contrôles sanitaires de l'eau. Le premier lot reçu était composé de cinq échantillons collectés en juin 2024 dans des stations de traitement des eaux usées de Cayenne, Kourou, Saint-Laurent-du-Maroni et Saint-Georges-de-l'Oyapock. L'analyse effectuée selon l'algorithme standard de l'OMS a détecté un poliovirus dans un échantillon collecté à Cayenne le 20 juin 2024. Le séquençage de sa région VP1 a révélé une souche de type 3 présentant 15 mutations par rapport à la souche vaccinale. Ce virus a donc été classé VDPV3 et déclaré à Santé publique France et à l'OMS. Dans les semaines suivantes, deux autres VDPV3 étaient identifiés : l'un, rétrospectivement, dans un échantillon collecté à Saint-Georges-de-l'Oyapock en mai 2024 ; l'autre dans un échantillon collecté dans l'agglomération de Cayenne en août 2024. Les analyses phylogénétiques conduites par le LA IP ont établi un lien génétique indubitable entre les trois VDPV3 indiquant qu'ils appartenaient au même lignage. Celui-ci ayant été détecté dans deux lieux différents et dans des échantillons collectés sur une période de 3 mois, les virus ont été classés comme VDPV3 circulants, selon la définition de l'OMS. Cependant, la circulation sur le territoire guyanais n'a pas été démontrée, la répétition des détections pouvant résulter d'importations successives de VDPV3 circulant ailleurs [Raffestin S, Tinard A, Enfissi A, Joffret ML, Lichtenstein T, Tirera S, Zanetti L, Barrau M, Mubenga F, Ortelli A, Peyrefitte CN, Lavergne A, Rousset D, Bessaud M. Detection of circulating type 3 vaccine-derived polioviruses in French Guiana, May to August 2024. Euro Surveill. 2024 Nov;29(45):2400705. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.45.2400705].

A la demande de l'ARS-Guyane, les envois de reliquats d'eaux usées par l'Institut Pasteur de la Guyane à destination du LA IP ont été poursuivis. Au total, le LA IP a reçu 56 échantillons collectés entre le 26 juin 2024 et le 18 décembre 2024. Aucun VDPV n'a été détecté après août 2024. Deux échantillons contenaient des poliovirus de type 3 portant peu de mutations par rapport à la

souche vaccinale et ont été classés Sabin-like 3. Ces deux échantillons provenaient de villes situées aux frontières : Saint-Laurent-du-Maroni, à la frontière avec le Suriname, et Saint-Georges-de-l'Oyapock, à la frontière avec le Brésil. Ces deux pays utilisant le VPO, il est probable que les souches détectées provenaient de personnes y ayant été récemment vaccinées.

La surveillance mise en place se poursuivra en 2025.

4.2.3. Investigations virologiques autour de la contamination accidentelle d'une salariée par du poliovirus 3 sauvage en secteur industriel

Cf annexe 3 (3.7)

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

5.1. Conseil et expertise aux professionnels de santé

Conseils par mail et appels téléphoniques

Le LC et le LA L sont régulièrement 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/exclusions de poliomyélite ou syndrome post-polio sont traitées spécifiquement par le LA L (6 dossiers de patients hospitalisés en 2024). Par ailleurs, 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 ou HPeV (médecins ou biologistes de CHU, CHR ou laboratoires privés ; médecins inspecteurs de DDASS)
- Evaluation de 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 HPeV
- 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 inhabituelles par leur contexte (grossesse, immunodépression), leur gravité ou leurs symptômes
- Conseils aux cliniciens sur les modalités diagnostiques de tableaux cliniques sévères, sur le risque de transmission materno-fœtale.

Le LC dispose d'une adresse spécifique au CNR (cnr-enterovirus@chu-clermontferrand.fr).

Site web du CNR

Le site web du CNR est à la fois un outil d'information sur les infections à entérovirus et parechovirus, et un outil de saisie des données clinico-virologiques pour les biologistes hospitaliers participant au RSE. Ce site, conçu et hébergé au CHU de Clermont-Ferrand, est en cours de refonte, avec une 1^{ère} étape gérée par le CHU (notamment révision complète de la charte graphique et de l'ergonomie proposée), tout en gardant les mêmes fonctionnalités.

L'objectif de cette actualisation est :

- 1/ de rendre plus visible le CNR et ses missions pour le grand public
- 2/ de rendre plus accessibles pour les membres du RSE les études réalisées par le CNR et la communication d'informations utiles (alertes, données épidémiologiques)
- 3/ de sécuriser de façon encore plus fiable l'accès aux données recueillies dans le cadre du RSE
- 4/ d'informer sur le plan d'éradication de la poliomyélite et de fournir les derniers bulletins d'information OMS, ECDC, Santé publique France (ou des liens vers), avec notamment une mise à disposition de la procédure d'alerte en cas de suspicion de poliomyélite (version actualisée du document de l'avis du HSCP de 2019 relatif à la conduite à tenir autour d'un cas de poliomyélite et d'un lien vers des bulletins épidémiologiques relatifs à la circulation des poliovirus sauvages et des vDPV actualisés hebdomadairement par l'OMS.

Le nouveau site internet doit être finalisé en 2025.

Bulletins épidémiologiques

CHU Clermont-Ferrand

Depuis 2015, le laboratoire transmet à la communauté médicale du CHU un bulletin hebdomadaire recensant le nombre d'infections virales à potentiel épidémique diagnostiquées au CHU. Depuis 2013, le laboratoire transmet à l'ARS Auvergne un relevé épidémiologique hebdomadaire des maladies à potentiel épidémique dont les méningites à EV.

CHU Lyon

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.

Formations

LA Institut Pasteur

- Formation à l'analyse de données de séquençage de poliovirus et à l'établissement de liens phylogénétiques. Public: cadres et techniciens de sept laboratoires polio d'Afrique francophone. 2-6 décembre 2024, Dakar.
- Accueil d'un membre du labo entéro/polio de l'Institut Pasteur Algérie (un mois) pour formation au typage génétique des entérovirus.
- Accueil d'un membre du labo entéro/polio de l'Institut Pasteur de Tunis (deux mois) pour formation au typage génétique des entérovirus.

5.2. Conseil et expertise aux autorités sanitaires

5.2.1. Surveillance polio

Maël Bessaud (LA IP) et Isabelle Schuffenecker (LA L) sont membres de la Commission nationale de certification de l'élimination de la poliomyélite et à ce titre, participent aux réunions organisées par la Commission et la DGS autour des problématiques d'éradication et de certification des labos polio et contribuent à la préparation du rapport annuel des activités contribuant à l'éradication de la poliomyélite transmis par la DGS à l'OMS.

Exposition accidentelle au PV3 sauvage

La prise en charge de cet incident a soulevé de nombreuses problématiques qui ont fait l'objet d'une douzaine de réunions impliquant le CNR, la médecine du travail de l'entreprise de la salariée, les infectiologues et hygiénistes référents de l'ESR de Lyon, SPF, le CEPIAS, la DGS et/ou l'OMS :

- Eventualité d'un confinement hospitalier dans le service de Maladies Infectieuses du CHU de Lyon face à l'excrétion d'un virus éradiqué
- Mise en place de mesures de décontamination au domicile de la salariée et de gestion des déchets biologiques (élimination des selles en DASRI) et matériels (vaisselle jetable, EPI, vêtements)
- Analyse de risque sur le co-confinement du conjoint à domicile et les mesures barrière à instaurer
- Analyse de risque sur l'assouplissement des mesures de confinement face à la longue durée d'excrétion
- Analyse de risque sur l'éventualité d'une excrétion chronique et de l'administration de pocapavir
- Analyse de risque sur l'éventualité d'une exposition accidentelle des techniciens en charge des analyses au LA L et mise en place de prélèvements de selles de contrôle

Détection de VDPV3 en Guyane

A la suite de la détection fortuite de VDPV3 dans des eaux usées de Guyane, le CNR a participé à de nombreuses réunions réunissant des acteurs de Santé publique France en métropole et en Guyane, l'ARS Guyane et l'Institut Pasteur de la Guyane afin de renforcer l'investigation des cas suspects de poliomyélite et d'établir un plan de surveillance environnementale sur le territoire pour une durée d'un an.

Saisine de la DGS concernant la réponse à apporter à une détection de poliovirus dans des eaux usées

Le CNR a contribué à l'élaboration d'un document relatif à la conduite à tenir en cas de détection de poliovirus dans les eaux usées à la suite de la saisine de Santé publique France et de l'ANSES par la DGS au travers de 4 réunions avec Santé publique France et l'ANSES et la rédaction d'une partie du document.

Le contexte international lié avec des détections répétées (avec circulation avérée) de VDPV dans les eaux usées depuis plusieurs années dans des pays d'un niveau sanitaire comparable au nôtre et les réflexions menées dans le cadre de cette saisine ont soulevé un questionnement sur la mise en place d'un registre et d'une déclaration obligatoire des myélites flasques aiguës en France, et sur l'actualisation possible de la conduite à tenir en cas de survenue d'un cas de poliomyélite en date de 2019. Ces sujets seront sans doute travaillés avec Santé publique France en 2025.

Détection concomitante de VDPV dans différents pays européens

Le CNR LA IP a participé à diverses réunions relatives à la conduite à tenir en France à la suite de détections de poliovirus génétiquement liés les uns avec les autres dans différents pays d'Europe [Böttcher S, Kreibich J, Wilton T, Saliba V, Blomqvist S, Al-Hello H, Savolainen-Kopra C, Wieczorek M, Gad B, Krzysztozek A, Pintó RM, Cabrerizo M, Bosch A, Saxentoff E, Diedrich S, Martin J. Detection of circulating vaccine-derived poliovirus type 2 (cVDPV2) in wastewater samples: a wake-up call, Finland, Germany, Poland, Spain, the United Kingdom, 2024. Euro Surveill. 2025 Jan;30(3). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2025.30.3.2500037].

5.3. Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Maël Bessaud : participation à l'émission Priorité santé consacrée à la poliomyélite à l'occasion de la Journée mondiale de lutte contre la polio (24 octobre 2024). <https://www.rfi.fr/fr/podcasts/priorité-santé/20241024-lutte-contre-la-poliomyélite>

Maël Bessaud : réponse à différentes sollicitations de journalistes au sujet des différentes alertes polio en Europe, à Gaza et en Guyane (Le Quotidien du médecin, Le Parisien, Les Surligneurs, Agence France Presse, RFI).

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

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. Travaux de recherche communs

Etude épidémiologique-viro-clinique rétrospective multicentrique sur les infections néonatales en France Métropolitaine (INFNEOEV) – LC et LA L

Objectifs :

- Epidémiologie clinique : déterminer la proportion et les caractéristiques cliniques des infections néonatales pour la période 2016-2023 ; déterminer la proportion des cas sévères et les signes de gravité associés
- Epidémiologie moléculaire: décrire les types d'EV identifiés toutes formes cliniques confondues et chez les cas sévères

Organisation de l'étude et apport du CNR :

- Relecture homogène des dossiers cliniques sévères (déjà connus dans le cadre de la surveillance) ou potentiellement sévères (dossiers de réanimation/USC non renseignés dans le cadre de la surveillance et recueil des informations sur une fiche standardisée validée par un pédiatre réanimateur et une pédiatre néonatalogiste
- 36 centres collaborateurs avec binômes clinicien/biologiste
- Le LA L est promoteur de l'étude et coordonne la collecte des données, l'analyse globale (en collaboration avec le LC) et la rédaction de la publication afférente

Etat d'avancement :

- Conventions signées en 2024 par les centres participants
- Recueil des données en cours (finalisé pour 18 centres participants), délai de recueil des données repoussé à juillet 2025

Epidémie de conjonctivites hémorragiques à CVA24 variant à Mayotte en 2024 (LC et LA IP)

Type d'étude : Multicentrique (CHU Mayotte, Service de santé des armées Mayotte, Institut Pasteur Madagascar, Institut Pasteur Paris, CNR LC)

Objectifs : Décrire l'épidémie de conjonctivite hémorragique qui s'est déclarée à Mayotte en janvier 2024, et caractériser le virus responsable

Apport du CNR : identification du virus responsable en 48h à réception des échantillons au CNR par séquençage NGS (Minlon, Nanopore)

Etat d'avancement : publication acceptée sous réserve de modifications dans *Emerging microbes and Infection*, en révision

Titre: 2024 re-emergence of coxsackievirus A24 variant causing an outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis in the South West Indian Ocean

Résumé: In early 2024, an outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis occurred in Mayotte and in Madagascar, two islands in the Indian Ocean. Real-time diagnosis and genotyping identified a different lineage of coxsackievirus A24 variant (CVA24v) from the current Asian outbreak. Although no recombination event had been detected in all previously reported CVA24v-associated outbreaks associated with the subgenotype IV, we characterised a putative recombinant strain by full-length genome sequencing.

Description clinique et investigations virologiques des cas d'infections à EV-D68 en 2024 (LC et LA L)

Type d'étude : Multicentrique, rétrospective, observationnelle

Objectifs : Décrire les caractéristiques épidémiocliniques associées à la réémergence précoce de l'EV-D68 en 2024 et l'évolution moléculaire du virus

Apport du CNR : Analyse des données épidémiologiques et cliniques issues de la surveillance renforcée par les laboratoires du RSE (distribution hebdomadaire des cas, % de positivité) avec comparaison à la période 2021-2024 pour les données cliniques ; séquençage et analyse phylogénétique des souches

Résultats épidémiovirologiques : En 2024, l'épidémie d'infections à EV-D68 s'est caractérisée par un début précoce avec la détection des premiers cas dès le mois de juillet et une ampleur plus importante que les années précédentes caractérisées par une forte circulation (en partie liée à la mise en place d'une surveillance renforcée). L'analyse des génomes partiels et complets obtenus a mis en évidence une co-circulation des clades B3 et D1 (prédominant).

Etat d'avancement :

- Description épidémioclinique : finalisée dans le cadre du rapport d'activités 2024.
- Analyse phylogénétique des génomes complets (n=1520 dont 78 génomes complets de souches d'EV-D68 françaises de 2021-2024): en cours:
- Analyse Beast Analyse réalisée fin 2024, à ré-actualiser et à interpréter.
- Valorisation envisagée sous forme d'une publication

Description clinique et investigations virologiques des méningites à E9 en 2024 (LC et LA L)

Type d'étude : Observationnelle, unicentrique, rétrospective faisant l'objet d'une thèse co-encadrée par le Dr Pilorgé (CHU de Brest), Isabelle Schuffenecker (LA L) et Audrey Mirand (LC)

Objectifs :

1/ Description des données épidémiocliniques des cas de méningites hospitalisés dans le Finistère-Nord et diagnostiqués au CHU de Brest sur la période 2018-2023 (répartition géographique, distribution temporelle, âge, signes cliniques à l'admission, durée d'hospitalisation, sévérité, prise en charge de la douleur, paramètres du LCS) dans le but de comparer les caractéristiques de l'épidémie à E9 de 2024 avec celles de tous les autres cas

2/ Etude de l'évolution moléculaire des E9 sur la période 2018-2024 en lien avec l'épidémie Brestoïse de 2024

Apport du CNR : Séquençage de génomes partiels et complets à partir d'échantillons cliniques collectés dans le cadre de la surveillance, analyse phylogénétique pour étude de l'évolution moléculaire sur la période 2018-2024

Etat d'avancement : Analyse des données cliniques et séquençage des génomes complets terminés. Analyse des génomes complets à réaliser. Soutenance de thèse prévue à l'automne 2025.

6.1.2. Travaux de recherche LC

Epidémiologie des infections à rhinovirus 2017-2022

Type d'étude : Observationnelle, monocentrique, rétrospective

Objectifs : Décrire l'épidémiologie des infections à rhinovirus chez les patients présentant une infection respiratoire au CHU de Clermont-Ferrand entre 2017 et 2022

Apport du CNR : Génotypage des rhinovirus (chez 1213 enfants, 668 adultes), mise au point du séquençage NGS du génome complet des 3 espèces de rhinovirus, analyse évolutive des génomes viraux

Etat d'avancement : en cours ; cette étude est réalisée dans le cadre de la thèse de doctorat Elisa Creuzet, assistante hospitalo-universitaire, début octobre 2024 ; direction C Henquell, co-encadrant M Bisseux).

Surveillance environnementale dans les eaux usées

Depuis 2020, l'équipe EPIE (dirigée par Jean-Luc Bailly) de l'UMR CNRS 6023 - LMGE associée au LC 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.

Apport du CNR : charge virale EV /séquençage NGS / analyse des génomes viraux

Exemple d'application, en lien avec la recrudescence des infections à EV-D68 observée en France (cf étude nationale multicentrique en cours) : Après avoir détecté quelques cas en juillet 2024 au CHU de Clermont-Ferrand, leur nombre a augmenté de façon très significative entre août et novembre 2024. Dans les eaux usées de la station d'épuration de Clermont-Ferrand, la détection moléculaire par PCR multiplex SARS-CoV-2/EV-A71/EV-D68 développée par l'équipe de recherche EPIE a permis de suivre le pic épidémique en temps réel et d'avoir un signal positif jusqu'en janvier 2025.

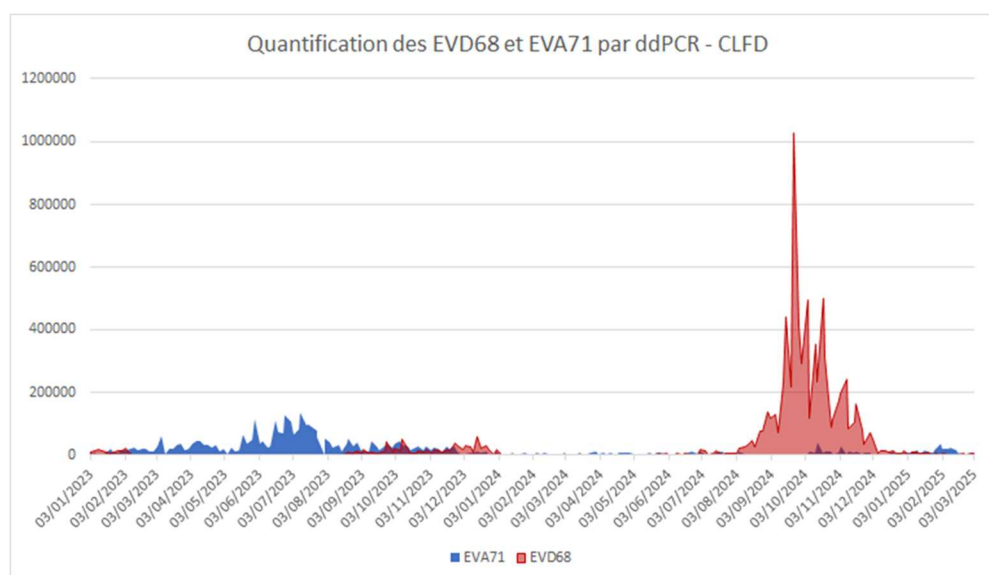


Figure 30. Charges virales EV-A71 et EV-D68 détectées dans les eaux usées à l'entrée de la station d'épuration Les Trois Rivières de Clermont-Ferrand, 01/2023 à 03/2025.

6.2. Liste des publications et communications concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.2.1. Chapitres d'ouvrage

Laboratoire coordonnateur LC

EMC Maladies infectieuses_ article_8-056-A-10, 2024 : **Henquell C, Mirand A, JL Bailly**. Entérovirus et parechovirus.

LC et LA L

Traité de virologie médicale : Entérovirus, rhinovirus et parechovirus. **Mirand A, Jeanneol M, Bessaud M, Henquell C, Schuffenecker J**. A paraître en 2025.

6.2.2. Publications internationales

Publications communes

Simoes MP, Hodcroft EB, Simmonds P, Albert J, Alidjinou EK, Ambert-Balay K, Andrés C, Antón A, Auvray C, **Bailly JL**, Baldanti F, Bastings C, Beard S, Berengua C, Berginc N, Bloemen M, Blomqvist S, Bosma F, Böttcher S, Bubba L, Buderus S, Cabrerizo M, Calvo C, Celma C, Ceriotti F, Clark G, Costa I, Coste-Burel M, Couderé K, Cremer J, Del Cuerpo Casas M, Daehne T, de Beer J, de Ceano-Vivas M, De Gascun C, de Rougemont A, Dean J, Dembinski JL, Diedrich S, Diez-Domingo J, Dillner L, Dorenberg DH, Ducancelle A, Dudman S, Dyrdak R, Eis-Huebinger AM, Falces-Romero I, Farkas A, Feeney S, Fernandez-Garcia MD, Flipse J, Franck KT, Galli C, Garrigue I, Geeraedts F, Georgieva I, Giardina F, Guiomar R, Hauzenberger E, Heikens E, **Henquell C**, Hober D, Hönemann M, Howson-Wells H, Hruškar Ž, Ikonen N, Imbert B, Jansz AR, **Jeannoël M**, Jiřincová H, Josset L, Keeren K, Kramer-Lindhout N, Krokstad S, Lazrek M, Le Guillou-Guillemette H, Lefevre C, Lind A, Lunar MM, Maier M, Marque-Juillet S, McClure CP, McKenna J, Meijer A, Menasalvas Ruiz A, Mengual-Chuliá B, Midgley S, **Mirand A**, Molenkamp R, Montes M, Moreno-Docón A, Morley U, Murk JL, Navascués-Ortega A, Nijhuis R, Nikolaeva-Glomb L, Nordbø SA, Numanovic S, Oggioni M, Oñate Vergara E, Pacaud J, Pacreau ML, Panning M, Pariani E, Pekova L, Pellegrinelli L, Petrovec M, Pietsch C, Pilorge L, Piñeiro L, Piralla A, Poljak M, Prochazka B, Rabella N, Rahamat-Langendoen JC, Rainetova P, Reynders M, Riezebos-Brilman A, Roorda L, Savolainen-Kopra C, **Schuffenecker I**, Smeets LC, Stoyanova A, Stefic K, Swanink C, Tabain I, Tjhe J, Thouault L, Tumiotta C, Uceda Renteria S, Uršič T, Vallet S, Van Ranst M, Van Wunnik P, Verweij JJ, Vila J, Wintermans B, Wollants E, Wolthers KC, Xavier López-Labrador F, Fischer TK, Harvala H, Benschop KSM. Epidemiological and Clinical Insights into the Enterovirus D68 Upsurge in Europe 2021-2022 and Emergence of Novel B3-Derived Lineages, ENPEN Multicentre Study. *J Infect Dis*. 2024 Oct 16;230(4):e917-e928. doi: 10.1093/infdis/jiae154. PMID: 38547499; PMCID: PMC11481312.

Couderé K, Benschop KSM, Koen G, van Eijk H, Harvala H, **Bailly JL**, **Bessaud M**, Kamau E, Simon I, Joffret ML, Nikolaeva-Glomb L, Georgieva I, Stoyanova A, Diedrich S, Böttcher S, Cabrerizo M, Tabain I, Hruškar Ž, Stevanović V, Susi P, Hietanen E, Palminha P, Rainetová P, Baicus A, Kristensen M, Pajkrt D, Murk JL, Wolthers KC, European Non-Polio Enterovirus Network. Assessment of twelve echovirus virus-neutralisation assays in Europe: recommendations for harmonisation of non-polio enterovirus sero-surveillance studies. *J Gen Virol*. 2024 Sep;105(9). doi: 10.1099/jgv.0.001986.

Martin de Frémont G, **Chabrolles H**, **Mirand A**, L'Honneur AS, Mélé N, Dunogue B, Boutboul D, Farhat M, Hachulla E, Lazrek M, Rieu V, Mathian A, Chaussade H, Ruet A, Burrel S, Coury-Lucas F, **Schuffenecker I**, Lemaigen A, Stefic K, le Besnerais M, Carrette M, Mouthon L, Avettand-Fenoel V, Terrier B, Hadjadj J. Severe enterovirus infections in patients with immune-mediated inflammatory diseases receiving anti-CD20 monoclonal antibodies. *RMD Open*. 2024 May 20;10(2):e004036. doi: 10.1136/rmdopen-2023-004036. PMID: 38772678; PMCID: PMC11328644.

Sten de Schrijver, Emiel Vanhulle, Anne Ingenbleek, Leonidas Alexakis, Caroline Klint Johannesen, Eeva K Broberg, Heli Harvala, Thea K Fischer, Kimberley S M Benschop; **ENPEN study collaborators**. Epidemiological and clinical insights into enterovirus circulation in Europe, 2018-2023: a multi-center retrospective study. *J Infect Dis* 2025; Apr 4:jiaf179. doi: 10.1093/infdis/jiaf179.

Audrey Mirand, **Maxime Bisseux**, Louis Collet, Vincent Lacoste, Violaine Pierres, Jonhson Raharinantoanina, Richter Razafindratsimandresy, **Hélène Chabrolles**, **Jean-Luc Bailly**, **Maël Bessaud**, Anabelle Lapostolle, **Cécile Henquell**. 2024 re-emergence of coxsackievirus A24 variant causing an outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis in the South West Indian Ocean. *Emerging microbes and Infection, en révision*.

Laboratoire coordonnateur LC

Fischer TK, Johannesen CK, Berginc N, **Bailly JL**, Benschop K, Harvala H. Why is polio still a concern, also in Europe? *Lancet Reg Health Eur*. 2024 Jun 25;43:100988. doi: 10.1016/j.lanpe.2024.100988. PMID: 39035698; PMCID: PMC11259722.

Archimbaud C, Dommergues MA, Lafolie J, Pereira B, Verdán M, Adam MN, Madhi F, L'Honneur AS, **Mirand A**, **Bailly JL**, **Henquell C**, and Marque-Juillet S, on Behalf of the Blood Enterovirus Diagnosis Infection (BLEDI) Group in the Pediatric Population Study Team. Blood Parechovirus RT-PCR Testing in Neonates and Infants: Comparison of Clinical and Biologic Features With Those of Enterovirus Infections. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, accepté pour publication le 13/01/25.

Laboratoire associé LA Lyon

Auvray C, Perez-Martin S, **Schuffenecker I**, Pitoiset C, Tarris G, Ambert-Balay K, Martin L, Dullier-Taillefumier N, Bour JB, Manoha C. Sudden Infant Death Associated with Rhinovirus Infection. *Viruses*. 2024 Mar 27;16(4):518. doi: 10.3390/v16040518.PMID: 38675861

Laboratoire associé LA IP

Raffestin S, Tinard A, Enfissi A, Joffret ML, Lichtenstein T, Tirera S, Zanetti L, Barrau M, Mubenga F, Ortelli A, Peyrefitte CN, Lavergne A, Rousset D, Bessaud M. Detection of circulating type 3 vaccine-derived polioviruses in French Guiana, May to August 2024. *Euro Surveill*. 2024 Nov;29(45):2400705. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.45.2400705.

Raharinantoanina J, Joffret ML, Bessaud M, Rakoto DAD, Dussart P, Lacoste V, Razafindratsimandresy R. Wide circulation of type 1 vaccine-derived poliovirus strains in clinical specimens from suspected cases of poliomyelitis, their contacts and in wastewater in Madagascar since late 2020. *Virology*. 2024 Dec; 600:110253. doi: 10.1016/j.virol.2024.110253.

Chesnais M, Bujaki E, Filhol T, Caval V, Joffret ML, Martin J, Jouvenet N, Bessaud M. Opening a 60-year time capsule: sequences of historical poliovirus cold variants shed a new light on a contemporary strain. *Virus Evol*. 2024 Jul 29;10(1): veae063. doi: 10.1093/ve/veae063.

Jallow MM, Mendy MP, Barry MA, Diagne MM, Sagne SN, Tall F, Diouf JBN, Ndiaye NK, Kiori D, Sy S, Goudiaby D, Loucoubar C, Fall G, Kadjo H, Bessaud M, Dia N. Real-Time Enterovirus D68 Outbreak Detection through Hospital Surveillance of Severe Acute Respiratory Infection, Senegal, 2023. *Emerg Infect Dis*. 2024 Aug;30(8):1687-1691. doi: 10.3201/eid3008.240410.

Doté J, Joffret ML, Beta BN, Ait-Ahmed M, Banga-Mingo V, Knowles NJ, Jouvenet N, Mbaïkoua MN, Gouandjika-Vasilache I, Bessaud M. Characterization of enteroviruses circulating among farm animals and children in Central African Republic. *Emerg Microbes Infect*. 2024 Dec ;13(1):2368212. doi: 10.1080/22221751.2024.2368212.

6.2.3. Communications orales

Laboratoire coordonnateur LC

Cécile Henquell : 22 v'la les entérovirus. *BioMed J*, 23-24 mai 2024. Paris, France - **Conférence invitée**

Bisseux Maxime : Deep sequencing of whole enterovirus genomes through PCR-based enrichment. Symposium ESCV/ENPEN, juin 2024 - **Conférence invitée**

Chabrolles H, Mirand A, Legrand A, Bisseux M, Ollier A, Pétilion F, Gallot D, Henquell C. Infections à entérovirus pendant la grossesse : recherche de virémie maternelle à partir de l'analyse rétrospective de sérums prélevés pour le dépistage de la toxoplasmose. *PERINAT'AURA*. 1er Congrès Régional de Médecine Périnatale. 27–28 juin 2024, Valence, France.

Audrey Mirand : Emergence des entérovirus A71 et D68 et infections sévères. 44^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse. 16-17 décembre 2024, Paris, France - **Conférence invitée**

Laboratoire associé LA L

Jeannoel M. Infections à EV en France : risque d'émergence en post-pandémie à Sars-CoV2 ? 44^{ème} Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie anti-infectieuse. 16-17 Décembre 2024. Paris - **Conférence invitée**

Laboratoire associé LA IP

Maël Bessaud: Opening a 60-year time capsule: sequences of historical poliovirus cold mutants shed a new light on a contemporary strain. *Europic*, 2-6 juin 2024, Jyväskylä, Finlande.

Maël Bessaud : Le programme d'éradication des poliovirus : situation en 2024. Webinaire de la Société française de virologie, 22 février 2024.

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

Projet de l'ANRS / MIE : « Proposition d'une préfiguration d'un système de surveillance environnementale des poliovirus et questions de recherche associées en contexte de résurgence »

Le LC et le LA IP sont impliqués dans une collaboration avec l'Institut Pasteur de la Guyane et le Service de biologie moléculaire et pathogènes émergents d'Eaux de Paris pour comparer et optimiser différentes techniques de détection et de caractérisation des poliovirus dans les eaux usées (financement ANRS / MIE).

Projet OBEPINE +

Le LC, impliqué dans le projet OBEPINE, continue sa participation à OBEPINE + qui s'intègre dans le dispositif national de prévention contre les futures maladies infectieuses émergentes. Les objectifs opérationnels du laboratoire sont la mise en place d'une zone atelier basée sur 5 stations de traitement des eaux usées du Puy-de-Dôme et la constitution d'une aquathèque.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

8.1. Participation active à la surveillance des laboratoires des départements et régions d'Outre-Mer

Des contacts seront renouvelés auprès des biologistes de ces laboratoires pour améliorer la surveillance des infections à entérovirus dans ces territoires (voir Annexe 3).

8.2. Enquêtes de séroprévalence poliovirus, EV-A71 et EV-D68

Le LC a pris contact en 2023 avec l'EFS de Bordeaux pour avoir accès à des sérums de donneurs de sang avant destruction, et avec le laboratoire CERBA pour des sérums d'enfants.

Etude de séroprévalence polio dans la population adulte française métropolitaine

- Objectif : Déterminer le taux de protection vis-à-vis des poliovirus chez les adultes en 2019
- Echantillonnage : Un échantillonnage de 1000 donneurs de sang a été réalisé d'après les données de l'Insee selon le sexe, l'âge (18-29 ans, 30-39 ans, 40-49 ans, 50-59 ans, 60-69 ans) et la région d'habitation, afin d'obtenir un échantillon représentatif. Ces sérums en provenance de l'EFS ont été reçus au CNR LC.
- Analyses : détection et titrage des anticorps neutralisants anti-PV1, PV2 et PV3 par séroneutralisation en culture cellulaire selon le protocole OMS utilisé en routine par le LA L en laboratoire de confinement L3.
- **Ce travail implique les 2 laboratoires associés du CNR** ayant les autorisations MOT nécessaires pour la manipulation des souches de poliovirus Sabin de types 1, 2 et 3.
- **Les analyses ont pu être finalisées en 2024 par le LA IP. Celles réalisées par le LA Lyon sont en cours et seront finalisées en Juin 2025.**

Etude de séroprévalence de l'EV-D68 et de l'EV-A71 dans la population pédiatrique française en métropole

- Objectif : Déterminer la prévalence des anticorps anti-EV-D68 et EV-A71 chez les enfants en 2024.
- Echantillonnage : Un échantillonnage de 500 patients a été réalisé d'après les données de l'Insee selon le sexe, l'âge (<1 an, 1-2 ans, 2-5 ans, 5-10 ans, 10-17 ans) et la région d'habitation, afin d'obtenir un échantillon représentatif de la population française.
- Analyses : détection et titrage des anticorps neutralisants par séroneutralisation en culture cellulaire pour chacun des 2 virus. **Ce travail est réalisé par le LC (EV-D68 terminé, EV-A71 en cours).**

8.3. Etude rétrospective multicentrique sur la recrudescence des infections à EV-D68 en 2024

Etude présentée dans le chapitre 6.1.1 et à finaliser en 2025

8.4. Epidémiologie des infections à EV-A71 en Europe (ENPEN)

Type d'étude : Observationnelle, Multicentrique, Rétrospective

Objectifs : Décrire les cas cliniques d'infections à EV-A71 dans les pays participant à l'étude et l'évolution moléculaire du virus, Europe, 2016 – 2022

Apport du CNR : Séquençage NGS du génome complet dans les échantillons cliniques collectés au cours de la surveillance hospitalière et ambulatoire en France et les laboratoires participant qui ne disposent pas de la technique de séquençage

Etat d'avancement : en cours ; cette étude est réalisée dans le cadre de la thèse de doctorat de Bélélé Siméon Bakyono, début sept. 2023 ; direction J-L Bailly, co-encadrant M Bisseux).

Résumé : L'étude des infections à EV-A71 en Europe est réalisée dans le cadre du réseau ENPEN (le CNR est investigateur principal). Les 16 laboratoires participant à l'étude sont répartis dans 13 pays. Des conventions de recherche ont été établies avec tous les participants. Les séquences génomiques issues du génotypage seront analysées et les génomes complets ont été obtenus et sont en cours d'analyse.

8.5. Analyse rétrospective des cas de méningo-encéphalites à EV chez des patients atteints de SEP traités par anti-CD20 (2019-2024)

Promoteur de l'étude : Centre de Recherche, Ressources et de Compétence Sclérose en Plaques (C2RC SEP, CHU Lyon) (Dr Androdias)

Objectifs :

- Décrire les caractéristiques cliniques, virologiques, biologiques, évolutives des cas de méningo-encéphalite à EV ainsi que les conséquences sur la prise en charge des patients à long terme (risque de chronicisation et d'aggravation de l'infection à EV, options pour le traitement de la ME et de la SEP)

Apport du CNR :

- Participation à l'élaboration du formulaire standardisé (CRF) de recueil des données
- Bilan des cas investigués via l'activité de surveillance des EV et typage des EV associés.

Etat d'avancement

-17 cas répertoriés entre 2019 et 2025 entre la base du CRC SEP et la base du CNR

Valorisation

- Publication (échéance 2025)

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1. Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

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 HPeV ; (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 HPeV ; (4) de développer les techniques d'identification et de caractérisation des souches d'EV et de HPEV, 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 Entérovirus (RSE), réseau de 35 à 40 laboratoires de CHU (dont les laboratoires du CNR) et CH qui transmettent mensuellement *via* le site web du CNR le nombre de prélèvements analysés, les résultats de détection virologique et les informations épidémiologiques pour les patients présentant une infection à EV. Les 5 laboratoires (hors LC et LA L) qui réalisent eux-mêmes le génotypage des EV renseignent également leurs résultats d'identification *via* le site web.

L'objectif de la surveillance 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 : (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 morts subites, 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 de CHU du CNR EV-PeV assurent au quotidien le typage moléculaire des EV pour les CHU de Lyon et Clermont-Ferrand ainsi que les CH/CHU de France Métropolitaine, et bientôt certains CH/CHU ultra-marins, ainsi que de rares PCR de diagnostic pour les laboratoires ne réalisant pas ces techniques. Ils assurent également l'animation du réseau, conjointement avec Santé publique France. Au cours de l'année de surveillance, un bulletin rédigé conjointement par le CNR EV-PeV et Santé publique France fait 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.

Dans le cadre du programme international d'éradication de la poliomyélite, le LA de Lyon et le LA de l'Institut Pasteur ont 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 (en particulier le typage des EV détectés dans les selles des enfants de moins de 15 ans); 2/ la recherche ciblée de poliovirus dans de rares tableaux de paralysie flasque aiguë avec éléments épidémiologiques pouvant faire suspecter une poliomyélite (1 à 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). Le contexte international de détection, à partir des eaux usées, d'une circulation de souches de poliovirus dérivées du vaccin dans plusieurs pays d'Europe démontre l'importance de l'expertise polio au sein du CNR dans la phase terminale du plan d'éradication de la poliomyélite.

Le CNR EV-PeV a également pour mission de promouvoir le diagnostic et le typage des infections systémiques à HPeV 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 HPeV en France métropolitaine (2) Offrir une possibilité diagnostique au clinicien, sachant que

le diagnostic des infections à HPEV 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.

1.2. Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

1.2.1 Répartition de l'activité

Elle est détaillée au Chapitre 1.

1.2.2 Procédure d'alerte élaborée conjointement par le CNR et Santé publique France

Suite à l'évaluation du comité des CNR de décembre 2022, le CNR et Santé publique France se sont réunis le 28 mars 2024. Le rendu de conclusions est le suivant :

1/ Le CNR et Santé publique France s'accordent sur l'importance du partage d'informations de manière réactive lors d'une alerte. L'information de Santé publique France peut avoir lieu à l'étape de validation/consolidation du signal (avant la qualification en alerte) pour bien anticiper la suite.

2/ En cas de remontée d'un signal jugé inhabituel, par exemple par des professionnels de santé, il convient d'informer sans délai Santé publique France et de prévoir rapidement un temps d'échange pour définir le cadre de l'investigation, les données disponibles et attendues, les communications prévues et les modalités d'information des partenaires et des sociétés savantes.

3/ Sachant que les publications scientifiques relatives à ces signaux/alertes peuvent donner lieu à des sollicitations du Ministère ou de Santé publique France (de la part des médias ou des agences sanitaires d'autres pays ou de la communauté scientifique), il est demandé au CNR d'informer Santé publique France et de transmettre les épreuves en amont de la publication pour anticiper ces sollicitations.

4/ Cette organisation s'applique à la fois aux signaux PV et EV non PV.

1.2.3 Procédure d'alerte polio

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

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 29). 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 SPF et doit faire l'objet d'investigations virologiques rapides.

Deux échantillons de selles prélevés à 24h d'intervalle devront être adressés au LA L (laboratoire national référent pour la prise en charge des prélèvements humains suspects de contenir du poliovirus) pour détection et typage par RT-PCR (délai de réponse pour la PCR EV et Poliovirus d'orientation : 4h minimum après réception des prélèvements) et/ou séquençage du gène VP1 (délai de réponse : 24-48h après isolement du virus en culture, sauf expertise complémentaire nécessaire du LA IP). L'acheminement des échantillons devra respecter la norme UN3373. 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. Des prélèvements additionnels seront prévus pour le diagnostic différentiel étiologique (plasma, sang total, serum). En cas de détection d'un poliovirus potentiellement neurovirulent (vDPV ou poliovirus sauvage), la caractérisation complète de la souche sera effectuée par le LA IP.

Toute détection ou isolement fortuit de poliovirus à partir de prélèvements humains doit également faire l'objet d'un typage moléculaire par le LA L 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 avec transport dédié (UN2814).

Toute confirmation biologique de poliomyélite 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 autorités 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 complète de la souche par le LA IP pourra s'avérer nécessaire de même que la réalisation de prélèvements systématiques chez l'entourage ou de prélèvements environnementaux autour de la résidence du cas.

CAT devant un cas d'exposition aux poliovirus

Cette situation s'applique principalement aux laboratoires fabriquant des vaccins anti-poliovirus mais aussi aux laboratoires de recherche ou de diagnostic manipulant des 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

Depuis 2018, le LA L assure les investigations virologiques en cas d'incidents/accidents d'exposition de personnels travaillant dans des structures mettant en œuvre des poliovirus. Les investigations virologiques s'appuient sur les recommandations de l'OMS (type de prélèvements, calendrier des prélèvements).

Les mesures de prise en charge des personnels exposés et de leurs contacts sont identiques à celles présentées en Figure 31. Une étape de concertation est systématiquement prévue entre le médecin du travail, l'ARS, la DGS, SPF et le CNR.

Les incidents avec risque d'exposition avéré à une souche neurovirulente ou à toute souche de sérotype 2 doivent faire l'objet d'un signalement systématique à la DGS. Les instances nationales (DGS) étant en charge d'informer l'OMS.

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

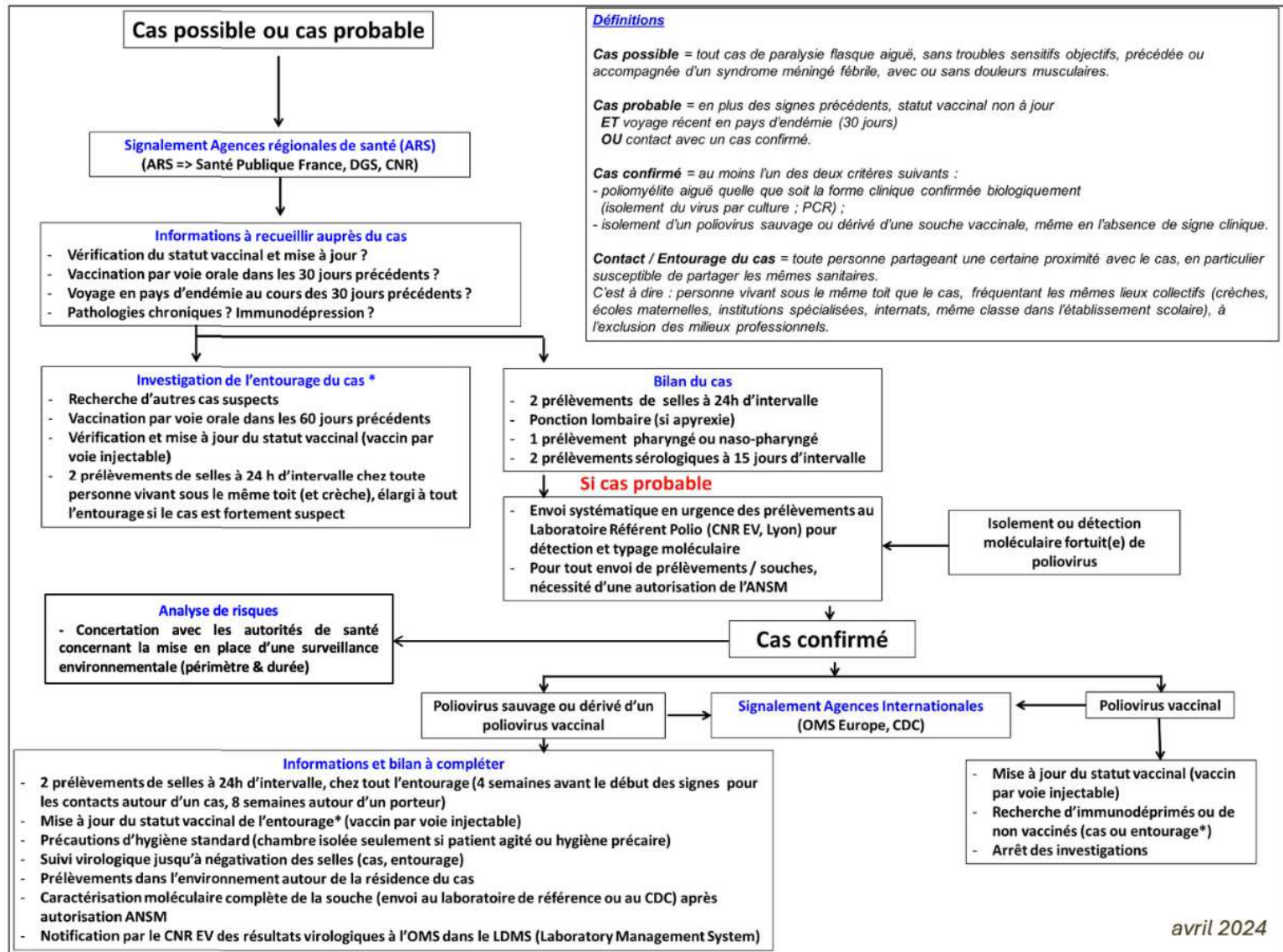
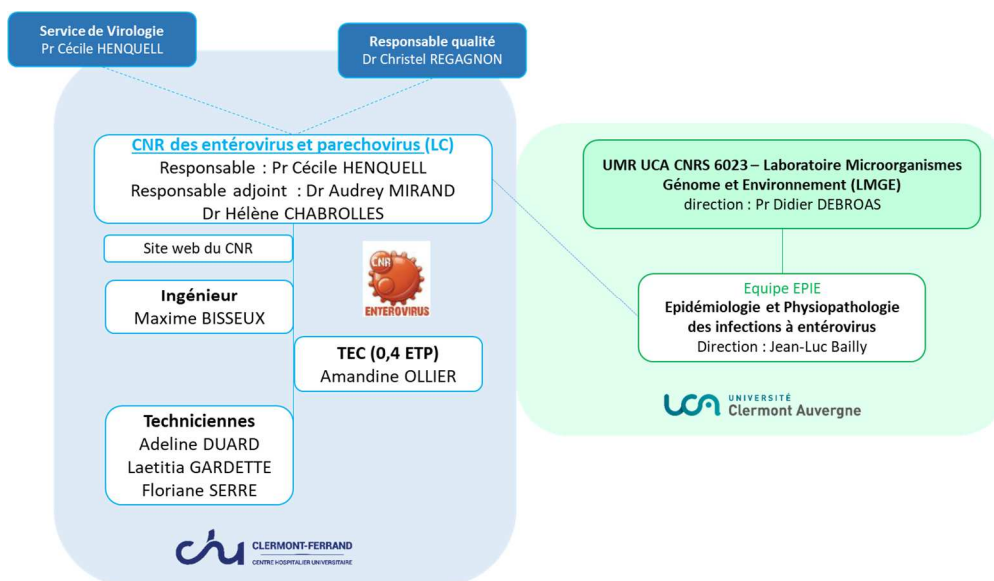


Figure 31. Conduite à tenir en cas de suspicion de poliomyélite ou de détection fortuite de poliovirus

1.2.4 Organisation du laboratoire coordonnateur CHU Clermont-Ferrand



Nom	Qualification	Fonction	Employeur	ETP
HENQUELL Cécile	Biologiste médicale	PU-PH Cheffe de service de Virologie, CHU CFD Responsable CNR	CHU CFD	0,2
MIRAND Audrey	Biologiste médicale	MCU-PH Responsable adjoint du CNR	CHU CFD	0,25
CHABROLLES Hélène	Biologiste médicale	AU-PHC Culture cellulaire	CHU CFD	0,1
BAILLY Jean-Luc	PhD, HDR	Membre du CNR	Université Clermont Auvergne	0,1
BISSEUX Maxime	PhD	Ingénieur du CNR	CNR	1
OLLIER Amandine	Technicienne d'études cliniques	TEC	CNR	0,4
DUARD Adeline	TL	technicienne	CNR	1
GARDETTE Laetitia	TL	technicienne	CNR	1
SERRE Floriane	TL	Technicienne	CNR	1

1.2.5 Laboratoire associé CHU de Lyon (LA L)

Nom	Qualification	Fonction	ETP
SCHUFFENECKER Isabelle	Biologiste médicale	PH <i>Responsable CNR</i>	0,75
JEANNOEL Marion ^a	Biologiste médicale	PH <i>Responsable adjointe CNR</i>	0,4
JOSSET Laurence	Biologiste médicale	MCU-PH <i>Co-responsable plateforme GenEPII</i>	0,05
LEBEURRE Jérémie ^b	PhD	Ingénieur CNR	1
CALFAPIETRA Enzo	Master bio-informatique	Bio-informaticien	0,15
FALCON Delphine	Technicienne	Technicienne référente BM et culture polio	1
GROSCARRET Emmanuelle	Technicienne	Technicienne référente BM CQ Métrologie	1
ZANGHELLINI Laure	Technicienne	Technicienne référente sérologie polio et technicienne BM CQ SMQ et Hygiène et Sécurité	0,9
ROUSSET Isabelle ^c	Technicienne	Technicienne sérologie polio et BM	0,9
PEREZ Brigitte	Assistante administrative		0,2

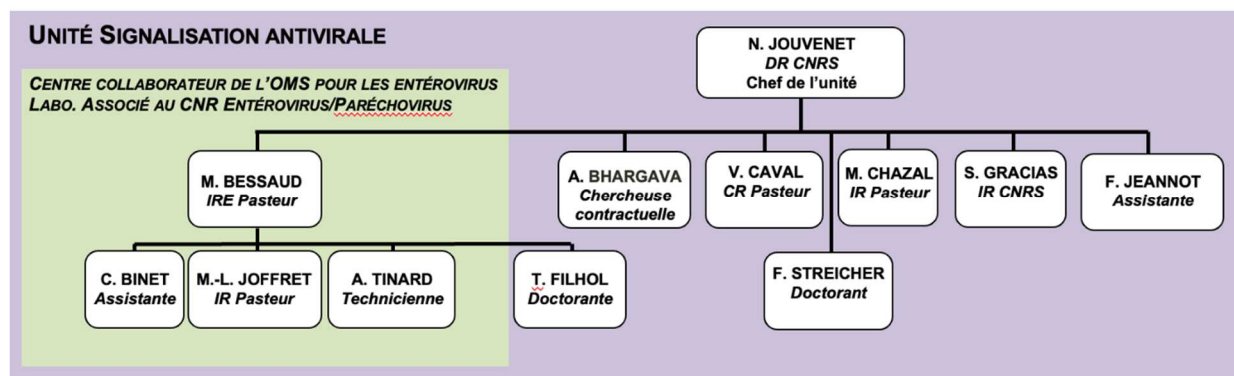
CQ : correspondante qualité ; RAQ : responsable assurance qualité ; SMQ : système de management de la qualité

^a Réduction quotité temps de travail de 0,75 à 0,4 depuis Janvier 2025 ; ^b Recrutement prévu en Juillet 2025 ; ^c Recrutée en Avril 2024

CQ : correspondante qualité ; RAQ : responsable assurance qualité ; SMQ : système de management de la qualité

^a Technicienne recrutée en Mars 2024 en remplacement de Pascale Bourret

1.2.6 Laboratoire associé Centre coordonnateur polio OMS de l'Institut Pasteur (LA IP)



Nom	Qualification	Fonction	Employeur	ETP
BESSAUD Maël	PhD, HDR	Responsable CNR	Institut Pasteur	0,25
JOFFRET Marie-Line	PhD	Ingénieure	Institut Pasteur	0,3
TINARD Ambre	Licence professionnelle	Technicienne	Institut Pasteur	0,5
BINET Caroline		Assistante administrative	Institut Pasteur	0,1

1.3. Locaux et équipements

1.3.1 Laboratoire coordonnateur CHU Clermont-Ferrand

Locaux

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 (5ème étage). L'activité du CNR est localisée au sein du laboratoire de Virologie médicale (Figure 30), avec un bureau dédié et des pièces techniques communes avec celles du service de Virologie médicale.

Surface parties techniques = 430 m²

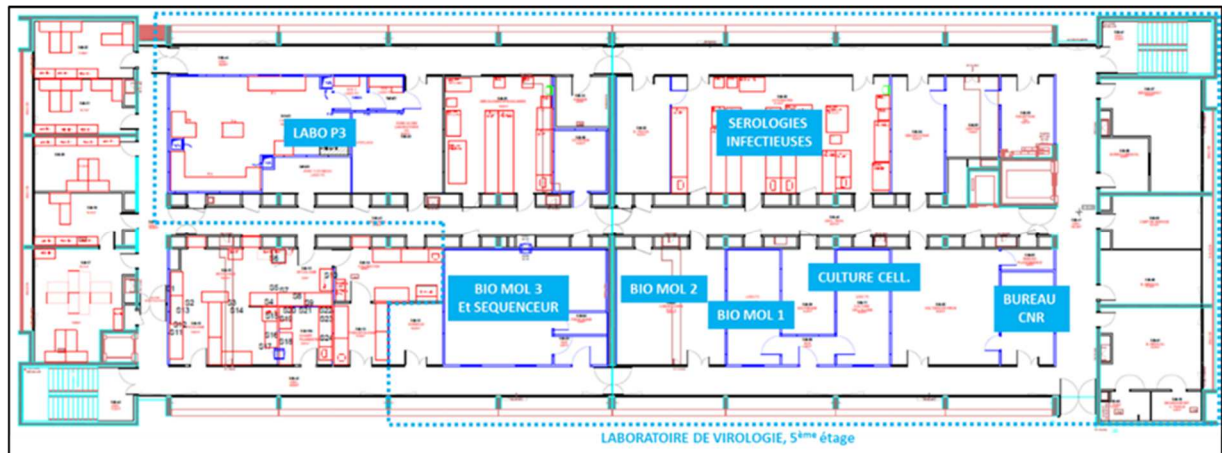


Figure 32. Implantation du CNR au sein du service de Virologie, Centre de Biologie, CHU de Clermont-Ferrand

Equipement

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
- 1 séquenceur Mk1C de Oxford Nanopore
- 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 responsables 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 3 séquenceurs haut débit MiSeq™ et 1 NextSeq550™ (Illumina), 2 Qubit et une TapeStation Agilent

- 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'examen urgents.

1.3.2 Laboratoire associé du CHU Lyon (LA L)

Les activités diagnostiques et de typage du LA L sont réalisées dans des locaux dédiés et mutualisés du Centre de Biologie du Groupement Hospitalier Nord du CHU de Lyon (Figure 31).

Le LA dispose d'un laboratoire P2 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. Par ailleurs, il dispose d'un box dédié au sein d'un des laboratoires L3 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. La conformité à la législation MOT a fait l'objet d'inspections de l'ANSM en 2015, 2018, 2022 et 2023. La conformité à la réglementation GAPIV a fait l'objet d'un audit de l'ANSM (autorité de référence auprès de l'OMS) en Septembre 2024. Une nouvelle autorisation de détention et de mise en œuvre des poliovirus a été délivrée par l'ANSM, valable jusqu'en Juin 2026. Un dossier de demande de renouvellement d'autorisation sera déposé au cours du premier trimestre 2026.

Locaux

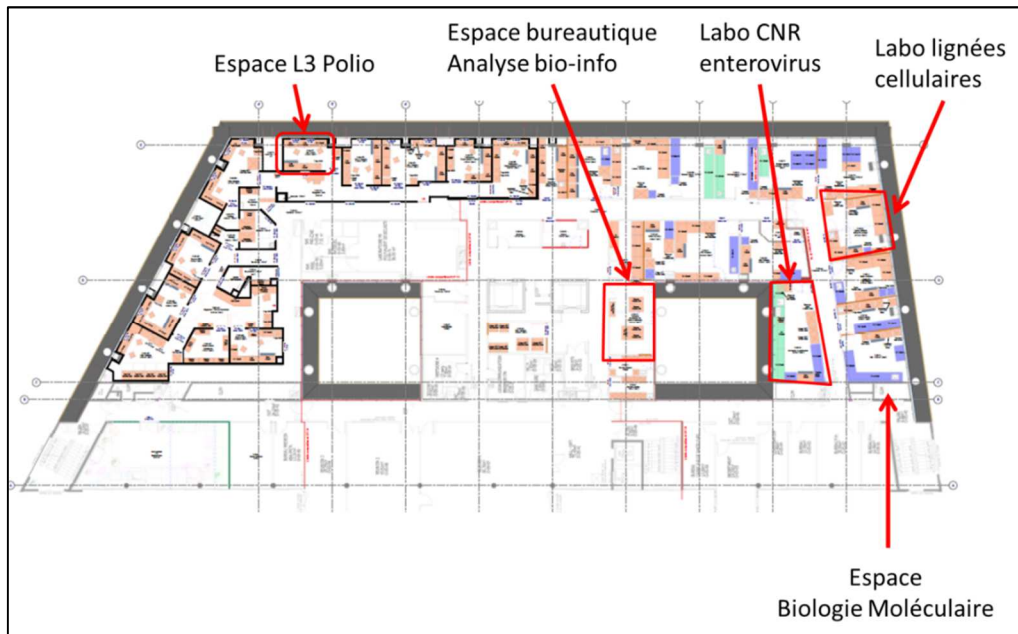


Figure 33. Plan des locaux du 5e étage de l'Institut des Agents Infectieux (Centre de Biologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon)

Equipements

L'équipement utilisé pour l'activité du LA L 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 LA L sont équipés de sondes et enregistreurs de température reliés au système MySirius. Le stockage à long terme des souches et des prélèvements cliniques du LA L se fait dans des congélateurs dédiés, situés dans les L2 et L3 dédiés au 5e étage du Centre de Biologie ou dans une zone de stockage mutualisée 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 dans le L3, conformément à la demande de l'OMS et de l'ANSM.

Équipements dédiés

Postes de sécurité microbiologique (2), étuves (5), microscopes (5), hotte pour préparation mix (1), hotte pour distribution des acides nucléiques/cDNA (1), hotte pour PCR nested (1), thermocyclers Eppendorf pour PCR conventionnelle (3), poste informatique (7) dont deux équipés du package Lasergene pour l'analyse de séquences, réfrigérateurs (2), congélateurs -20° (8), congélateurs -80° (2), centrifugeuse pour traitement des selles (1), cuve à électrophorèse (1).

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), thermocyclers ABI7500 (2), thermocyclers pour PCR conventionnelle (5)

- Equipement de culture cellulaire : poste de sécurité microbiologique (1 ; dédié), étuve à CO2 (1), microscope (1), étuve (1).

- Equipements de la plateforme de séquençage haut débit (genEPII) : 6 robots pipeteurs utilisés pour la préparation des amplicons et des bibliothèques : Mosquito HV (SPT Labtech) (n=3) ; Dragonfly Discovery (SPT Labtech) (n=2) ; DreamPrep (Tecan) (n=1); 4 séquenceurs haut débit dont 2 utilisés par le LA L : NovaSeq 6000 (Illumina) (n=1) ; Minion MK1C (n=1)

- Centre de Ressources Biologiques

1.3.1 Laboratoire associé Pasteur (LA IP)

Le LA IP est rattaché à l'unité Signalisation antivirale du département de virologie de l'Institut Pasteur (Unité mixte de recherche 3596, Université de Paris Cité-CNRS). Il mène en parallèle des activités de recherche et des activités de santé publique. En plus de son mandat au sein du CNR, ce laboratoire est un centre collaborateur de l'OMS (Epidémiologie & macro-évolution des poliovirus & des entérovirus non-polio) et l'un des sept laboratoires experts du Réseau mondial des laboratoires polio de l'OMS.

Locaux

Le laboratoire dispose de ses propres locaux (Figure 32) dont notamment :

- Un P2 dédié à la culture cellulaire (pièce 08)
- Un P2 dédié à la culture d'entérovirus non-polio (pièce 09)
- Un P2 dédié à la culture de poliovirus (pièce 09A)
- Un P2 dédié aux cultures de bactéries et au traitement des échantillons d'eaux usées (pièce 04)
- Un laboratoire de biologie moléculaire (pièce 05).

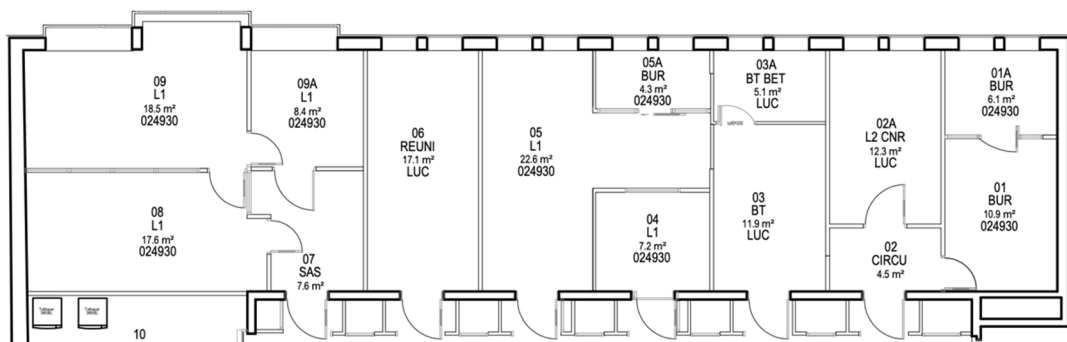


Figure 34. Implantation du LAIP dans le bâtiment Biotop sur le campus de l'Institut Pasteur

Il dispose de l'usage exclusif d'un box dans un des P3 du Centre François-Jacob (box 09E, Figure 33).

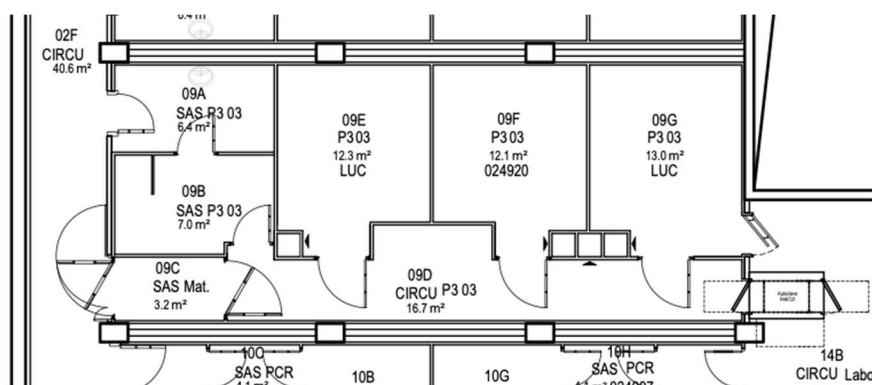


Figure 35. Box dédié au LAIP dans le bâtiment François-Jacob

Tous ces locaux sont déclarés dans le dossier technique MOT relatif au poliovirus.

Equipement

Les équipements utilisés ne sont pas mutualisés avec d'autres équipes. Il s'agit entre autres des appareils de PCR en temps réel (ABI StepOne et BioRad CFX96) et des quatre congélateurs à -80°C dont deux ont un accès nécessitant l'utilisation d'un badge personnel. Tous les congélateurs à -80 °C et les congélateurs à -30 °C dans lesquels sont stockés les échantillons et les enzymes sont surveillés par des sondes avec un système d'alarme par téléphone et courriel en cas de dépassement des températures de consigne.

1.4. Collections de matériel biologique

1.4.1 Laboratoire coordonnateur

L'ensemble des échantillons biologiques, extraits d'ARN ou surnageants de culture positifs pour la recherche d'EV, de HPeV ou de rhinovirus est conservé à -80°C au sein du Centre de Biologie, dans le local sécurisé dédié aux congélateurs à -80°C et aux cuves d'azote liquide.

La collection du laboratoire est constituée

- d'échantillons cliniques et extraits d'acides nucléiques collectés dans le cadre de la surveillance
- de souches collectées 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 (génomme partiel, et de plus en plus génome complet).
- de 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.

1.4.2. Laboratoire associé LYON

Le LA L possède une collection de souches prototypes d'EV, rhinovirus et HPeV 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, HPeV ou rhinovirus dans le cadre de sa mission de surveillance et dûment caractérisés par séquençage.

Souches et échantillons cliniques sont conservés dans des congélateurs dont la température est contrôlée. Ils 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).

1.4.3 Labo associé Institut Pasteur

Les échantillons reçus dans le cadre des activités du CNR se fait dans des congélateurs non-partagés avec d'autres équipes. Ils sont listés dans un espace dédié de l'outil utilisé pour gérer les collections (eLabJournal). Seuls les membres du LAIP ont accès à cet espace grâce à un système de mots de passe personnels géré par la DSI de l'Institut Pasteur. L'inventaire est stocké de façon crypté et sécurisé sur le cluster de l'Institut Pasteur.

1.5. Démarche qualité du laboratoire

1.5.1. Labo coordonnateur

La démarche qualité du CNR est la même que celle du service de Virologie et bénéficie des mêmes dispositions (cf Chapitre 1). 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 HPeV
- **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)
Méthodes évaluées : méthodes de génotypage spécifiques et génériques des EV

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

1.5.2 Labo associé LYON

Le LA, 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 LA L se fait dans le système informatique commun (GLIMS) du LBMMS et sous l'UF du LA L. Toutes les étapes analytiques sont tracées (date extraction et volume d'élution, date et résultats PCR, date et résultats des données de séquençage). Les étapes de saisie, validation et édition des résultats sont tracées par le SGL. Les résultats de typage moléculaire et les séquences associées sont saisis en temps réel sur le site Web dédié à la surveillance. Les échantillons reçus et ARN extraits sont conservés à -20/80° dans des bibliothèques dédiées (identification par numéro unique attribué lors de la création du dossier patient) dont la température est contrôlée par enregistreur de température.

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

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 discriminer par culture les poliovirus et EV non polio sur des échantillons de selles (ce CQE est utilisé aussi en interne pour évaluer la capacité du laboratoire à identifier les mélanges de PV et les mélanges EV/PV).
- Depuis 2018, participation annuelle au CQE international (distribué par l'IRR, USA) évaluant la capacité à détecter et sous-typer les poliovirus par la méthode ITD/VDPV développée par le CDC.

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

- Depuis 2006, participation au CQE européen évaluant les performances des techniques de détection moléculaire des EV (trousse Enterovirus R-gene® de bioMérieux ; 1 programme par an).
- Depuis 2011, participation au CQE européen évaluant les performances des techniques de détection moléculaire des parechovirus (trousse Parechovirus R-gene® de bioMérieux ; 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 évaluant les performances des techniques de typage moléculaire des entérovirus (séquençage Sanger et NGS régions 1DVP1 et 1A-1B ; 1 programme par an).

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 le LC et le LA du CNR (organisation alternative) pour l'évaluation comparative des techniques de détection et de typage de l'EV-D68.

1.5.3 Labo associé Pasteur

En tant que membre du Réseau mondial des laboratoires polio de l'OMS, le laboratoire est soumis à des tests de compétence annuels pour chacune des techniques mises en œuvre pour la détection et la caractérisation de poliovirus. Il est également

soumis à des audits réguliers par les coordinateurs du réseau qui vérifie l'existence de procédures écrites décrivant l'ensemble des activités réalisées au profit de l'OMS.

Le LA IP n'effectuant d'actes diagnostiques, il n'a pas d'accréditation COFRAC.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1. Liste des techniques de référence

2.1.1 Laboratoire coordonnateur

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. Les méthodes de **culture cellulaire 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 35 ci-après, 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.

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 :

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

Tableau 35 - 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 à réception
Entérovirus	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	RT-PCR en temps réel (Enterovirus R-GENE®, bioMérieux) *	5' non codante	5j /7 j	360 - 900	4h
		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)				
Entérovirus	Diagnostic spécifique par RT-PCR en temps réel	Spécifique EV-D68 (Poelman <i>et al.</i> , 2015)	1D (VP1)	Période de circulation (6 j/7 j)	1080	4h
		Automate : ABI7500				
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	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.	1D (VP1) ou 1A-1B (VP4-VP2)	5j /7 j	120	48h
		Génotypage générique :				
		- 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).				

Tableau 35 – suite

Virus	Méthodes	Trousses, méthodes et références	Séquence génomique	Rythmicité	Capacité maximum par semaine	Délai minimum à réception
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 j/7 j	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 j/7 j	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 j/7 j	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 j/7 j	240	48h

2.1.2 Laboratoire associé Lyon

Le laboratoire associé dispose de méthodes de détection et de typage moléculaire des EV, HPeV et rhinovirus applicables à tous les échantillons biologiques reçus au laboratoire dans le cadre de la surveillance (LCS, échantillons naso-pharyngés et de gorge, bronchiques, sanguins, de selles, prélèvements de vésicules, biopsies, liquide péricardique, surnageants de culture) (Tableau 36). Le typage de routine est réalisé en interne par séquençage NGS d'amplicons correspondant à des régions génomiques ciblées (un run hebdomadaire à un run mensuel selon les périodes). Pour les échantillons urgents (dossiers cliniques sévères essentiellement), le typage des amplicons est réalisé par séquençage Sanger par un prestataire externe (délai post-PCR de rendu des séquences : 24h). En cas d'urgence polio, un séquençage sur Minion peut-être réalisé en zone dédiée MOT (délai de rendu: 24-48h) 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 pour la réalisation des sérologies polio complètes notamment pour les salariés travaillant pour les sites industriels producteurs de vaccin.

Accréditation des analyses

Analyses déjà accréditées :

- Isolement poliovirus en culture et typage moléculaire des poliovirus par RT-PCR (accréditation OMS)
- RT-PCR temps réel EV-D68 spécifique (technique maison) sur ABI7500 et QS5 (Mai 2022) (COFRAC, norme ISO 15189)
- Titrage des anticorps anti-poliovirus par séroneutralisation (Mai 2022) (COFRAC, norme ISO 15189)

Analyses à accréditer :

- PCR EV et HPEV générique : calendrier prévisionnel : 2025 (norme ISO 15189)
- Génotypage des souches d'EV, parechovirus et rhinovirus par séquençage haut-débit : calendrier prévisionnel : 2025 (norme ISO 15189)

2.1.3 Laboratoire coordonnateur Pasteur

- Isolement de poliovirus en culture cellulaire à partir de selles selon l'algorithme de l'OMS
- Isolement de poliovirus en culture cellulaire à partir d'eaux usées selon l'algorithme de l'OMS
- Différentiation intratypique des poliovirus selon l'algorithme de l'OMS

Tableau 36 - 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)	5' NC	1 à 5/7*	90 - 540	6h
		BIOFIRE® FILMARRAY® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel		5/7		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
HPeV	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	Parechovirus-R gene®, bioMérieux (ABI 7500 ou QuantStudio)	5' NC	1 à 5/7*	90-540	6h
		BIOFIRE® FILMARRAY® Meningitis/Encephalitis (ME) Panel		5/7		1h (LCS)
RV	Diagnostic générique par RT-PCR en temps réel	Panther Fusion® RV/ADV/MPV assay	5' NC	5/7	90-540	3h
Typage moléculaire par RT-PCR temps réel						
POLIO		rRT-PCR ITD 5.1 kit		1 à 5/7	50 en cas d'alerte	6h (après isolement virus en culture)
		rRT-PCR VDPV 5.0 kit				
Typage moléculaire par RT-PCR nichée et séquençage Sanger des amplicons (échantillons urgents)						
EV	Typage par RT-PCR et Séquençage Sanger	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)	VP1	1 à 5/7	24-96	48-96h
		Génotypage générique :	VP4-VP2			
		- 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 Sanger sur ABI 3730XL				

Tableau 36 - suite

Virus	Méthodes	Trousses, méthodes et références	Séquence génomique	Fréquence	Capacité par semaine	Délai minimum (à réception de l'échantillon)
HPeV	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 Sanger sur ABI 3730XL	VP1	1 à 5/7*	24-96	48-96h
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 Sanger sur ABI 3730XL	VP4-VP2	1 à 5/7*	24-96	48-96h
Typage moléculaire par RT-PCR nichée et séquençage haut débit des amplicons (échantillons non urgents)						
EV	Typage par RT-PCR et Séquençage haut-débit d'amplicons	Même techniques de RT-PCR nichées Séquençage Illumina sur NovaSeq après poolage des amplicons	VP1 VP4-VP2	1 à 2/7*	90 - 380	10-15 jrs (un à 2 runs hebdomadaires selon besoins)
HPeV	Typage par RT-PCR et Séquençage haut-débit d'amplicons	Mêmes techniques de RT-PCR nichées Séquençage Illumina sur NovaSeq après poolage des amplicons	VP1	1 à 2/7*	90 - 380	10-15 jrs
RV	Typage par RT-PCR et Séquençage haut-débit d'amplicons	Mêmes techniques de RT-PCR Séquençage Illumina sur NovaSeq après poolage des amplicons	VP4-VP2	1 à 2/7*	90 - 380	10-15 jrs
Séquençage haut débit de génomes complets						
EV HPeV RV	Caractérisation des génomes complets par séquençage haut débit	- Approche métatranscriptomique sur TECAN DreamPrep™ NGS workstation (Revelo™ RNA-Seq high sensitivity library preparation kit) puis séquençage Illumina sur NavaSeq	Génome complet	Par séries hebdomadaires selon besoins	90	5-10 jrs

Tableau 36 – suite

Virus	Méthodes	Trousses, méthodes et références	Séquence génomique	Fréquence	Capacité par semaine	Délai minimum (à réception de l'échantillon)
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

Tableau 37 – Liste récapitulative des techniques disponibles au laboratoire associé – Institut Pasteur

Virus	Méthodes	Trousses, méthodes et références	Séquence génomique	Fréquence	Capacité par semaine	Délai minimum (à réception de l'échantillon)
Détection						
EV	Détection générique par RT-PCR en temps réel	Monpoeho <i>et al.</i> Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002 Jul;21(7):532-6. doi: 10.1007/s10096-002-0766-5.	5' NC	À la demande	120	5 h
Typage moléculaire par RT-PCR temps réel						
POLIO	Kits OMS	rRT-PCR ITD 6 kit rRT-PCR VDPV 5.2 kit		À la demande	960	5 h
Caractérisation génétique des poliovirus						
POLIO	Séquençage Sanger de la région VP1 après amplification par RT-PCR	Burns <i>et al.</i> (2016). Methods in Molecular Biology, vol 1387. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3292-4_9	VP1	À la demande	120	36-72 h
POLIO	Séquençage haut-débit d'amplicons	► RT-PCR avec une batterie d'oligonucléotides générant des fragments chevauchants (Joffret <i>et al.</i> Front Microbiol. 2018 Sep 28;9:2339. doi: 10.3389/fmicb.2018.02339 & Bessaud <i>et al.</i> Front Microbiol. 2016 Aug 26;7:1294. doi: 10.3389/fmicb.2016.01294) puis séquençage Illumina.	Génome complet	À la demande	50	4-8 j
Typage moléculaire par RT-PCR nichée et séquençage Sanger des amplicons						
EV	Typage par RT-PCR et Séquençage Sanger	► Génotypage générique : - RT puis PCR nichée ciblant la région VP1 (gène 1D partiel) (Nix <i>et al.</i> , 2008) adaptée par le laboratoire associé du CNR.	VP1	À la demande	128	48-72 h
Typage moléculaire par RT-PCR et séquençage haut débit des amplicons						
EV	Typage par RT-PCR et Séquençage haut-débit d'amplicons	► RT-PCR amplifiant toute la capsid (Joffret <i>et al.</i> Front Microbiol. 2018 Sep 28;9:2339. doi: 10.3389/fmicb.2018.02339.) puis séquençage Illumina.	5'NC-2C	À la demande	120	3-7 j

2.2. Liste des techniques recommandées par le CNR

Il existe des trousse commerciales pour la détection moléculaire des EV et des HPeV dans différents échantillons biologiques. La performance de ces tests est évaluée régulièrement par le contrôle de qualité européen (QCMD) distribué annuellement par le CNR EV-HPeV. S'il apparaît un manque de sensibilité d'une trousse commerciale (pour un virus spécifique ou le genre entier), une information est faite auprès des membres du RSE.

De nouvelles trousse commerciales ou celles dont l'usage se répand sont testées régulièrement par le CNR (résultats partagés et/ou publiés).