



Rapport annuel d'activité

2021

**Centre de national de référence
des Herpesvirus**

**Années d'exercice
2019-2020**



SOMMAIRE :

Résumé analytique.....	4
Analytical summary.....	5
1. Missions et organisation du CNR.....	6
2. Activités d'expertise.....	6
2.1 Évolution des techniques.....	6
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	7
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires.....	15
2.4 Collections de matériel biologique.....	15
2.5 Activités d'expertise.....	17
2.5.4 Organisation des contrôles de qualité inter-laboratoires.....	20
2.6 Activités de séquençage.....	20
3. Activités de surveillance.....	22
3.1 Description du réseau de partenaires.....	22
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	25
3.2.1 Surveillance des infections néonatales à Herpes simplex.....	25
3.2.2 Surveillance nationale des cas d'infection congénitale à CMV.....	27
3.2.3 Épidémiologie des infections à CMV en population générale.....	33
3.2.4 Infections du système nerveux central par les alphaherpèsvirus HSV et VZV.....	34
3.2.5 Épidémiologie moléculaire du VZV.....	34
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....	36
3.3.1 Surveillance de la résistance du CMV aux antiviraux.....	36
3.3.2 Surveillance de la résistance des HSV-1 et HSV-2 aux antiviraux.....	41
3.3.3 Surveillance de la résistance du VZV aux antiviraux.....	43
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	44
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance.....	45
4 Alerte.....	54
5 Activités de rétro-information, de formation et de conseil.....	54
5.1 Formation aux professionnels de santé.....	54
5.2 Conseil aux professionnels de santé.....	58
5.3 Conseil et expertise pour les autorités sanitaires.....	59
5.4 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public...).....	60
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....	61
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année 2019 et 2020, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	61
6.1.1 Infection congénitale à CMV.....	61
6.1.2 Nouvelles cibles thérapeutiques anti CMV.....	66
6.1.3 Résistance aux antiviraux et facteurs de risque.....	66
6.1.4 Alpha herpesvirus.....	67

6.1.5 Participation du CNR à des projets de Recherche clinique concernant les Herpesvirus et dont l'investigateur principal n'est pas le CNR.....	67
6.2 Liste des publications et communications 2019-2021, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	67
7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux.....	74
8. Programme d'activité pour les années suivantes	75
9 Collaboration avec le laboratoire de virologie du CHU de Grenoble.....	77
Annexe 1 : Missions & organisation du CNR.....	80
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	80
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.....	81
1.2.1 Equipe : personnels dévolus dans les activités du CNR et laboratoires associés	81
1.2.2 Locaux et équipements	82
1.3 Collections de matériel biologique	84
1.4 Démarche qualité du laboratoire	86
Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....	88
2.1 Liste des techniques de référence.....	88
2.1.1 CMV	88
2.1.2 HSV	89
2.1.3 VZV.....	91
2.1.4 génotypage des autres Herpesvirus HHV6, EBV à visée épidémiologique	91
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR.....	92
Annexe : Informations complémentaires évolution des Réseaux de surveillance	93
Réseau de partenaires pour la déclaration en ligne des cas d'infection congénitale à CMV (plateforme Voozano) au 31/12/2020	93
Réseau de partenaires pour le recueil de déclarations et de souches pour les infections materno-fœtales en 2019 et 2020.....	95
Questionnaire de recensement en ligne des infections congénitales par le CMV :.....	104

Résumé analytique

La fin de l'année 2019 et l'année 2020 ont été marquées par la pandémie de Covid-19 qui a monopolisé les forces de tous les laboratoires, incluant les Centres Nationaux de Référence. Cependant, la charge de travail concernant les missions de surveillance, d'aide au diagnostic et de conseil concernant les infections à Herpesvirus n'a pas diminué de manière significative. Si le confinement a eu un effet probable sur l'incidence de la varicelle, qui a clairement baissé en 2020 (source Inserm Sentinelles), le nombre d'infections congénitales à CMV déclarées n'a pas diminué, et malgré une diminution des transplantations de près de 25% en 2020, le nombre de cas de résistance aux antiviraux est resté quasi constant. Les laboratoires du CNR des Herpesvirus ont donc maintenu leur activité avec plusieurs faits marquants :

- Dans le domaine de l'infection congénitale à CMV, le CNR a porté des progrès thérapeutiques notables

1) A la suite de la preuve d'efficacité du valaciclovir pour prévenir la transmission maternofoetale (Shahar Nissan et al., 2020) et sur la base de leur propre expérience, de nouveaux algorithmes de prise en charge ont été développés et validés par le laboratoire associé Necker, pour proposer un traitement des primo infections à CMV en prévention de la transmission maternofoetale. Ce travail modifie de manière fondamentale la prise en charge des patientes. Les algorithmes sont désormais appliqués par les deux sites de Necker et de Limoges qui a mis en place un dépistage encadré de l'infection congénitale à CMV depuis janvier 2020. Par ailleurs le laboratoire associé Necker a précisé les facteurs de risque de séquelles chez les nouveaux-nés (protocole CYMEPEDIA). Les recommandations de prise en charge seront disponibles sur le site du CNR à la fin de l'été.

2) Les travaux conjoints des deux laboratoires ont suggéré la possibilité d'utiliser le letermovir, nouvel antiviral ciblant spécifiquement les terminases du CMV et de très faible toxicité pour traiter l'infection congénitale à CMV. Le passage transplacentaire sur modèle de troisième trimestre et l'absence de toxicité du letermovir ont été validés par Necker et l'efficacité et l'absence de toxicité sur les villosités placentaires de premier trimestre ont été démontrées par le laboratoire CNR de Limoges. Un essai clinique très attendu, le PHRC **CYMEVAL III** porté par le Dr Leruez-Ville comparant valaciclovir et letermovir, pour le traitement des infections *in utero* va donc débiter en 2021.

Ces données nouvelles laissent donc espérer une amélioration considérable de la prise en charge des infections congénitales à CMV sur le territoire.

3) Les travaux récemment publiés par le CNR sur l'épidémiologie du CMV en crèche et les données recueillies dans la base de données nationale du CNR, de plus en plus exhaustives seront une aide importante pour mesurer le risque lié au CMV et implémenter de nouveaux vaccins. La mise en place en France en 2021 d'un essai de phase III d'un vaccin ARN CMV dont le CHU de Limoges sera site coordonnateur est également une étape-clé de la prévention de cette infection.

- Dans le domaine des infections à CMV résistantes aux antiviraux le laboratoire CNR a poursuivi ses missions d'accompagnement et d'aide au diagnostic, ainsi que les missions de conseil auprès de l'ANSM et des autorités de santé, pour encadrer l'utilisation des antiviraux par la surveillance des résistances, et promouvoir l'accès des patients aux nouvelles molécules. En particulier :

1) Concernant le **letermovir**, qui est désormais largement utilisé en prophylaxie anti CMV en greffe de moelle chez les receveurs à haut risque d'infection à CMV (CMV séropositifs), le CNR a alerté sur les facteurs de risque de résistance (sous dosage, malabsorption, interruption thérapeutique). Il a évalué la prévalence des résistances en prophylaxie secondaire (5,5%) et recommandé le dosage du letermovir en cas de doute sur la prise ou l'absorption médicamenteuse.

2) Le laboratoire CNR a également évalué le **maribavir**, à la fois en pratique clinique en participant à l'étude de phase III internationale Solstice 303 chez les patients réfractaires. Et en surveillant les patients sous ATU.

3) En collaboration avec la SFGMTC la surveillance des nouvelles molécules a été mise en place avec la cohorte nationale **NaViRe** débutée en 2021.

- Dans le domaine des infections à Alpha herpesvirus le laboratoire associé de la Pitié Salpêtrière a poursuivi la surveillance des résistances, élargi celle-ci aux nouveaux anti herpès (pritelivir et amenamivir) et mis en place une étude majeure : La cohorte rétrospective nationale **Alpha Rétro14-18**. L'objectif de cette cohorte est d'identifier, à partir des échantillons adressés au CNR par l'ensemble des laboratoires de virologie, les caractéristiques et les facteurs de risque d'infection neuroméningée grave à HSV ou à VZV. Une collaboration avec l'Institut Imagine de Necker permettra d'analyser les facteurs génétiques associés, et de mieux identifier les personnes à risque.

Nous espérons pouvoir retrouver une activité complète et pouvoir poursuivre et développer nos missions de manière plus sereine à partir de la fin de l'année 2021 et en 2022.

Analytical summary

The Herpesvirus National Reference Center located in Limoges (coordination) and in Paris (Necker and Pitié Salpêtrière University hospitals) is in charge of the national survey for HSV, VZV, and CMV infections three Herpesviruses associated with an important public Health burden. They also survey HHV6 and EBV infections two other herpesviruses than can provide life threatening illnesses especially in immunocompromised patients.

The end of 2019 and 2020 were marked by the Covid-19 pandemic, which has monopolized the strengths of all laboratories, including the National Reference Centers (NRC). However, the workload for surveillance, diagnostic and counselling missions of the Herpesvirus NRC has not decreased significantly. While containment has had a likely effect on the incidence of chickenpox, which clearly declined in 2020 (Inserm Sentinel source), the number of reported congenital CMV infections has not decreased, and despite a nearly 25% decrease in transplants in 2020, the number of cases of resistance to antivirals has remained almost constant. The laboratories of the Herpesvirus NRC have therefore maintained their activity with several important facts:

- In the field of congenital CMV (cCMV) infection, the NRC has promoted significant therapeutic progress;

1) Following the proof of valaciclovir's effectiveness in preventing maternal fetal transmission (Shahar Nissan et al., 2020) and on the basis of their own experience, new support algorithms have been developed and validated by the Necker associated laboratory, to provide treatment for primary CMV infections in the prevention of maternal fetal transmission. This work fundamentally changes cCMV management. The algorithms are now being applied by Necker and also by Limoges site, which has implemented a supervised screening for cCMV infection since January 2020. Risk of sequelae was also analyzed from CYMEPEDIA protocol in newborns. Management recommendations will be available on the NRC website at the end of the summer.

2) The joint work of the two laboratories suggested the possibility of using letermovir, a novel antiviral specifically targeting CMV terminases and of very low toxicity to treat congenital CMV infection: The transplacental passage on a third trimester model and the absence of letermovir toxicity were validated by Necker and the efficacy and absence of toxicity on first trimester placental villi were demonstrated by Limoges. A highly anticipated clinical trial, the PHRC **CYMEVAL III** carried by Dr. Leruez-Ville (Necker) comparing valaciclovir and letermovir, for the treatment of infections *in utero* will therefore begin in 2021.

3) The recently published work by the Limoges laboratory on the epidemiology of CMV in day care centers and the data collected in the national database of the NRC, which is increasingly exhaustive, will be an important help to measure the risk of cCMV and to implement new vaccines. The establishment in France in 2021 of a phase III trial of a CMV RNA vaccine (site coordinator for France is Limoges) is also a key step in the prevention of congenital CMV.

-In the field of resistant CMV infections, the NRC Limoges laboratory continued its support and diagnostic assistance missions, as well as consulting missions to the ANSM and health authorities, to guide the use of antivirals through resistance monitoring, and to promote patient access to new molecules. In particular:

1) Regarding letermovir, which is now widely used in bone marrow transplant CMV prophylaxis in recipients at high risk of CMV infection (seropositive CMV), the NRC warned about risk factors for resistance (under dosage, malabsorption, therapeutic interruption). It evaluated the prevalence of resistance in secondary prophylaxis (5.5%) and recommended the dosing of letermovir in case of doubt about the drug intake or absorption.

2) They also evaluated maribavir, a CMV kinase inhibitor, both in clinical practice by participating as primary investigator for France in the international Solstice 303 Phase III study in refractory patients, and by monitoring patients on ATU.

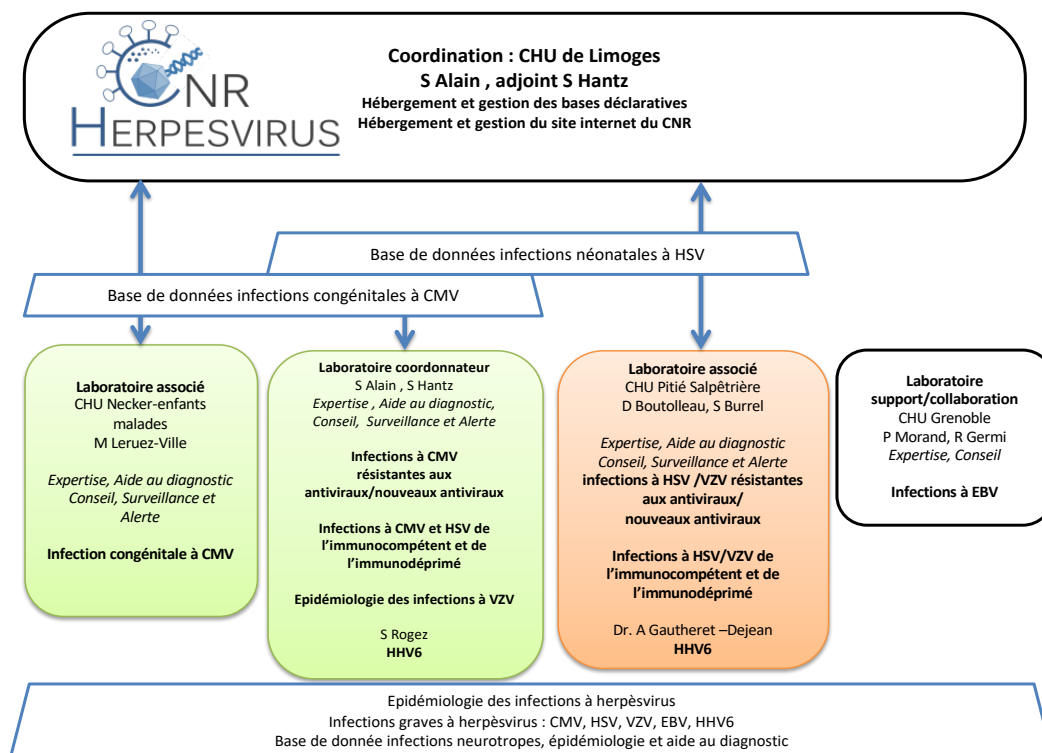
3) In collaboration with the SFGMTC, they implemented a new national cohort for the monitoring of new molecules, the NaViRe cohort, which began in 2021.

-In the field of Alpha herpesvirus infections, the associated laboratory of Pitié Salpêtrière continued the surveillance of resistance, expanded it to new anti herpes (pritelivir and amenamivir) and set up a major study: The **National retrospective cohort Alpha Retro 14-18**. The objective of this cohort is to identify, from samples sent to the NRC by all virology laboratories, the characteristics and risk factors of serious neuromeningeal HSV or VZV infection. A collaboration with the Imagine Institute in Necker will make it possible to analyze the associated genetic factors, and better identify patients at risk.

We hope to be able to regain a complete activity and to be able to continue and develop our missions in a more serene way from the end of 2021 and 2022.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme du CNR



Collaboration avec le Laboratoire de Virologie de Grenoble :

Ce partenariat est important pour le CNR car ce laboratoire est le référent national pour les infections à virus d'Epstein Barr et participe aux missions de conseil et de formation, et réalise certaines analyses spécifiques. Il est donc affiché sur le nouvel organigramme en tant que collaborateur et non laboratoire associé au CNR.

Pour le détail se reporter à l'[annexe 1](#).

2. Activités d'expertise

2.1 Évolution des techniques

Cf annexe 2

Laboratoire CNR Limoges : Pas de modifications notables des techniques en place en 2019-2020. Introduction du séquençage du gène *UL51*, codant pour une protéine du complexe terminase, porteuse de mutations de résistance au letermovir.

Laboratoire associé Necker : pas de changement de technique en 2019-2020. Introduction du Mickrogen *recomline* CMV IgG et CMV IgG Avidity fin 2020 : en cours d'évaluation.

Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière :

Séquençage du complexe hélicase-primase des alphaherpèsvirus : HSV-1, HSV-2, et VZV

Le complexe hélicase-primase (HP) constitue la cible d'une nouvelle classe d'antiviraux dirigés contre les HSV et le VZV : les inhibiteurs d'hélicase-primase (IHP). A ce jour, les IHP comptent deux représentants : le pritélvir (PTV), qui est actif uniquement sur les HSV, et actuellement en essai clinique de phase 3 pour le traitement des infections cutanéomuqueuses dues aux HSV

résistants à l'aciclovir (ACV) chez des patients immunodéprimés, en comparaison avec le foscarnet (FOS) (NCT03073967), et l'aménamévir (AMNV) qui est actif sur les HSV et le VZV, et disponible en ATU nominative en France depuis mars 2021 sous le nom d'AMENALIEF®. Dans le cadre de la prochaine utilisation des IHP en pratique médicale et de la nécessité de rechercher d'éventuelles mutations de résistance, nous avons précédemment mis au point la technique de séquençage des gènes codant le complexe HP (UL5/UL52) des HSV-1 et HSV-2 (Collot *et al.*, Antiviral Res, 2016). En 2020, la technique de séquençage des gènes codant le complexe HP (ORF55/ORF6) du VZV a été mise au point dans le cadre du travail du mémoire de DES de Biologie Médicale de ML. PACREAU. Ces différentes techniques sont donc désormais en place pour une activité diagnostique au CNR Herpèsvirus – Laboratoire associé (LA) Pitié-Salpêtrière.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

2.2.1 Laboratoire CNR Limoges

Validation d'une PCR multiplex Albumine/CMV

Cette technique amplifie en Duplex un fragment du gène *UL83* du CMV et un fragment du gène codant l'Albumine. Elle a été développée au laboratoire par Deborah Andouard, lors de son doctorat pour la mesure du nombre de copies de génome de CMV par cellules dans les tissus. Et validée en 2019-2020 sur Extracteur E-Mag et thermocycleur CFX (Biorad) en microplaque par Mélissa Gomez, ingénieur du CNR en charge des évaluations techniques. Plusieurs matrices ont été également validées notamment urines, lavage bronchoalvéolaire, liquide cébrospinal. Le facteur de conversion en UI/mL (cf calcul développé par notre laboratoire et accessible sur le site du CNR) permet de rendre les résultats du CMV en unités internationales.

Cette PCR multiplex peut être utile pour normaliser la quantification du CMV dans des prélèvements tels que les biopsies digestives, la moëlle osseuse ou les LBA. Le résultat de l'albumine sert également de contrôle d'inhibition de quantification. La PCR *UL83* avait été validée au CNR et par un contrôle inter-laboratoire Toulouse-Limoges Bordeaux, et utilisée lors du premier contrôle de qualité organisé par le laboratoire CNR de Limoges en 2011. La PCR Albumine a été validée et publiée au laboratoire (Wagner *et al.* 2009), et l'utilisation de la PCR multiplex a été validée sur les tissus placentaires fin 2019 (Jacquet *et al.*, 2019 cf liste des publications).

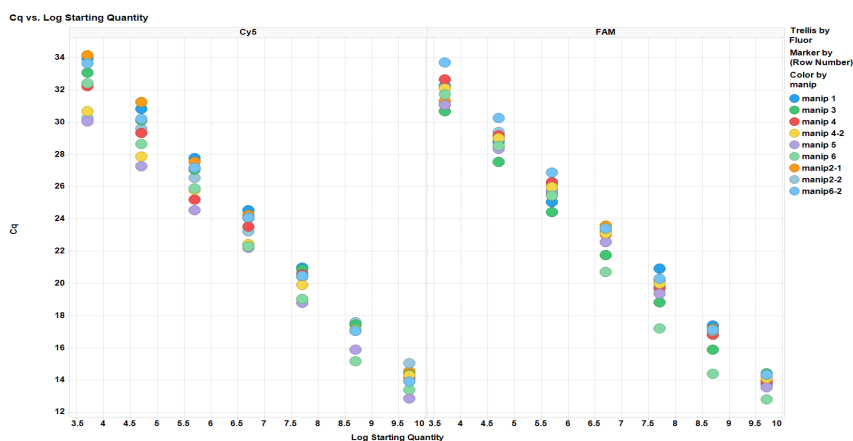
Les séquences des amorces et le protocole sont disponibles sur demande au laboratoire CNR.

Validation de la PCR CMV Rgene après extraction sur automate E-Mag (BioMérieux) pour différentes matrices, en comparaison de la PCR Albumine/CMV

En 2020, nous avons validé la corrélation entre la PCR R-Gene CMV et notre PCR Duplex. Les échantillons cliniques provenaient notamment de différents laboratoires du CNR (Necker, Limoges) et du laboratoire de Grenoble.

Reproductibilité des Gammes standard CMV et albumine avec la PCR *UL83*/Albumine à partir d'un contrôle de qualité dilué.

Cy5= Albumine et Fam = CMV



Comparaison des limites de détection et de quantification

	Input	Home brew PCR						CMV R-GENE					
		Number of positive replicates	Hit Rate	Ct mean	SD Ct	Mean log	SD log	Number of positive replicates	Hit Rate	Ct mean	SD Ct	Mean log	SD log
Plasma	2x LOD	19/20	95%	37.2	1.0	2.2	0.9	10/10	100%	39.0	0.9	2.7	0.3
	1x LOD	8/20	40%	39.2	1.1	0.8	0.4	8/8	100%	39.2	0.7	2.6	0.2
Urine	2x LOD	18/19	95%	37	1.0	2.5	0.3	18/18	100%	37.0	0.4	2.9	0.1
	1x LOD	18/20	90%	37.7	1.1	2.3	0.4	18/18	100%	38.2	0.8	2.5	0.2
CSF	2x LOD	18/20	90%	37.2	1.7	1.9	0.6	29/30	97%	38.3	1	2.5	0.3
	1x LOD	15/20	75%	38.1	1.3	1.7	0.5	22/28	78%	39.1	1.2	2.3	0.4
BAL	2x LOD	20/20	100%	36	0.9	1.7	0.3	20/20	100%	37.9	0.8	2.8	0.2
	1x LOD	14/20	70%	36.5	0.9	1.5	0.3	19/20	95%	39.4	0.9	2.4	0.3
Saliva swab	4x LOD	20/20	100%	37.6	1.1	1.2	0.4	19/19	100%	37.8	0.9	2.8	0.3
	2x LOD	15/19	79%	36.8	0.9	2.1	0.3	19/20	95%	38.7	0.92	2.5	0.3
	1x LOD	14/20	70%	37.1	1.0	2.0	0.3	16/20	80%	40.2	1.0	2.05	0.3

2.2.2 Laboratoire associé Necker

Evaluation de la trousse « Simplexa™ Congenital CMV Direct » de chez Diasorin

Il s'agit d'un test de PCR temps réel réalisable sans extraction préalable sur la salive et validé pour le diagnostic néonatal dans un écouvillonnage salivaire prélevé en milieu de transport UTM avant 21 jours de vie. Un à 8 échantillons peuvent être traités par heure. Le résultat est qualitatif mais le CT de l'échantillon est donné par le logiciel ; la limite de détection est de 500 copies/ml.

50 échantillons salivaires en milieu UTM, collectés chez 50 nouveau-nés et conservés à -20°C ont été testés : 30 échantillons positifs par PCR CMV R Gene™ faite après extraction et provenant de 30 nouveau-nés infectés et 20 échantillons négatifs provenant de 20 nouveau-nés non infectés. La concordance entre les 2 techniques était de 100% (Table 1), la corrélation entre les CT était bonne (figure 1).

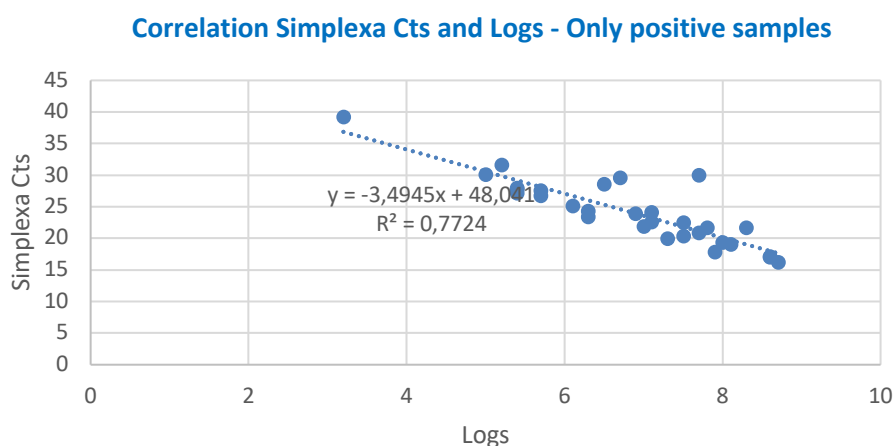
Cette technique est fiable et pourrait être positionnée dans les laboratoires réalisant peu de tests de PCR CMV, notamment dans le cadre du dépistage ciblé du CMV congénitale chez les nouveau-nés ayant un dépistage de la surdité douteux ou négatif (voir plus bas les résultats de l'étude Cymeaudit).

Ces résultats vont être présentés sous forme de poster au congrès Congenital CMV, let's face it à Rome en octobre 2021.

Table 1

	Reference method: CMV-R Gene BioMérieux	Simplexa™ cCMV Diasorin	Concordance
Saliva in UTM - Positives	30	30	100%
Saliva in UTM - Negatives	20	20	100%

Figure 1



Comparaison de 2 algorithmes de dépistage des primo-infections maternelles au 1^{er} trimestre

L'algorithme le plus couramment utilisé consiste à tester en 1^{ère} intention les IgG et les IgM suivi de la réalisation d'un test d'avidité des IgG lorsque les IgG et les IgM sont positives. Un autre algorithme possible serait de tester les IgG en 1^{ère} intention et de réaliser un test d'avidité dans les sérums avec IgG positives. En soin courant, nous utilisons le 1^{er} algorithme dans notre laboratoire. Pour comparer les 2 algorithmes, nous avons décongelé les sérums des patientes dépistées de juin 2018 à juin 2019, entre 11 et 14 semaines, et nous avons réalisé un test d'avidité des IgG sur les sérums avec IgG positives. Nous avons comparé le nombre de cas de primo-infection maternelle détectées avec chacun des algorithmes. Dans notre laboratoire les tests d'avidité sont systématiquement faits par 2 techniques : Liaison et Vidas. Lorsque les 2 tests donnent des résultats discordants : l'avidité est considérée comme faible si au moins 1 des 2 résultats est faible, comme intermédiaire si au moins 1 des 2 résultats est intermédiaire.

Avec le 1^{er} algorithme (Figure 1), nous avons mis en évidence 11 primo-infections maternelles : 6 avec avidité faible, 4 avec avidité intermédiaire, 1 avec des IgM isolées et une séroconversion dans un sérum prélevé 1 semaine plus tard. Avec le 2^{ème} algorithme (Figure 2), l'avidité n'a pas pu être mesurée dans 10 sérums car le taux des IgG était trop bas (< 30 UA/ml en Liaison XL), l'avidité était faible dans 6 sérums et intermédiaire dans 5 sérums. Avec ce 2^{ème}

algorithme, nous avons mis en évidence une infection périconceptionnelle non vue par le 1^{er} algorithme (IgM négative) en revanche la primo-infection avec IgM isolée n'a pas été repérée par cet algorithme. Au total, aucun des 2 algorithmes n'est parfait. Ce type d'étude devrait être fait sur des dans de plus grandes populations.

Figure 1 : Résultats du 1^{er} algorithme

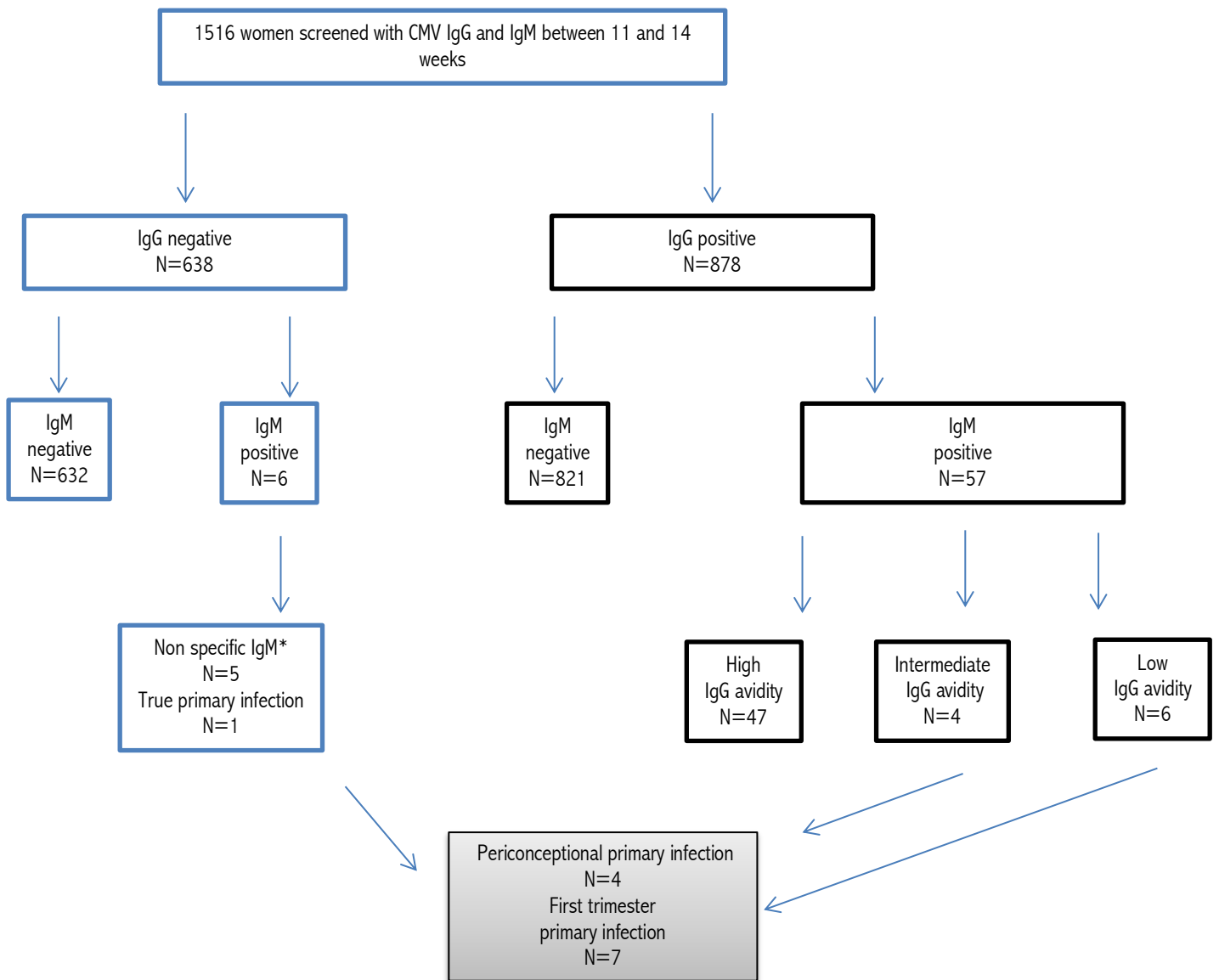
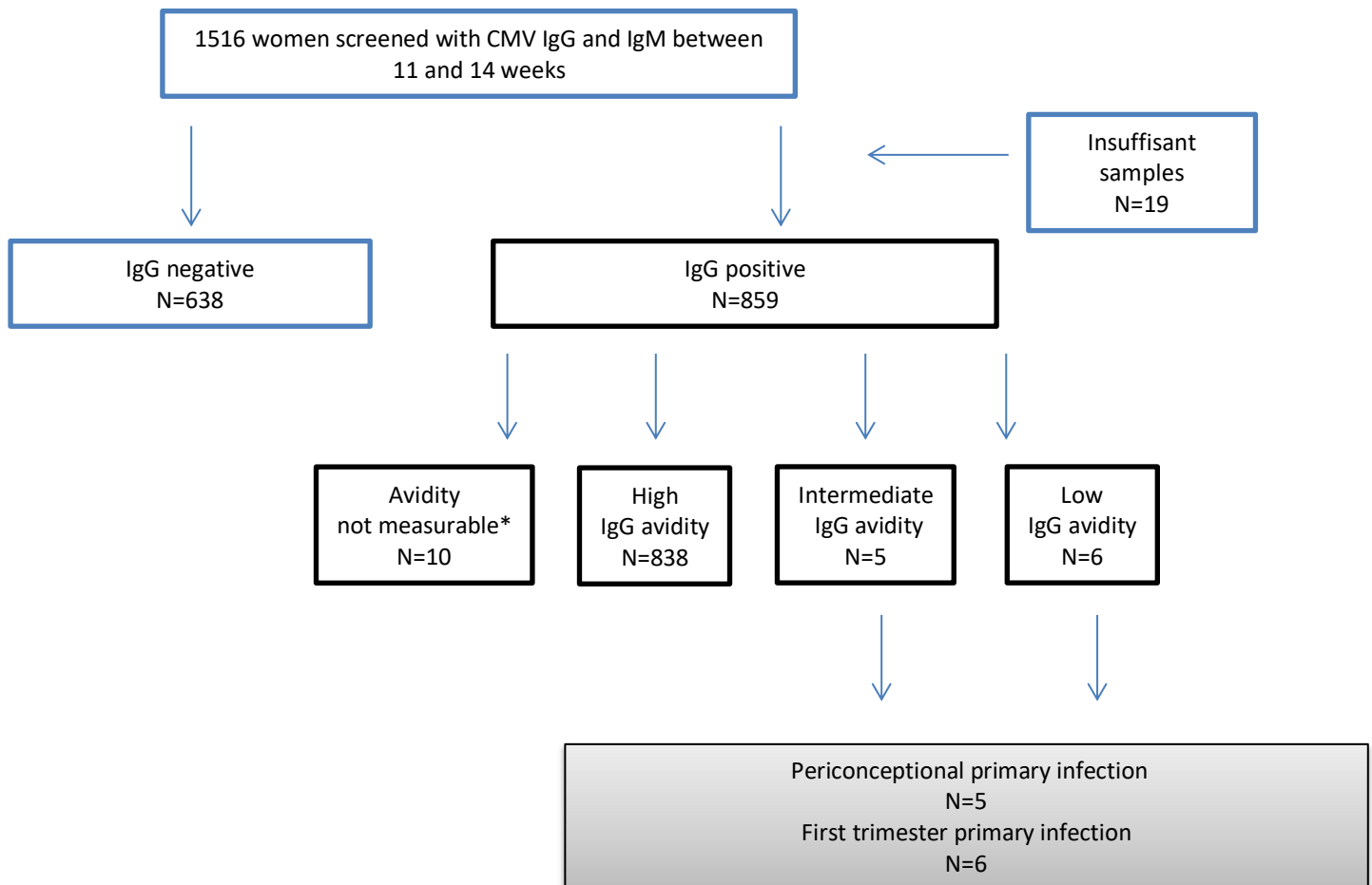


Figure 2



2.2.3 Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

PCR quantitatives R-GENE® HSV1&2 et VZV (BIOMERIEUX)

L'évaluation de la nouvelle trousse de PCR quantitative R-GENE® HSV1&2 et VZV (BIOMERIEUX), commencée fin 2018, a été achevée au cours du 1^{er} trimestre 2019 dans les deux applications suivantes :

- Quantification du génome du HSV-1 dans 50 prélèvements de lavage broncho-alvéolaire (LBA) de patients intubés/ventilés avec expression des résultats en copies de génome viral/million de cellules (en utilisant la trousse CELL Control R-GENE®). Comparaison des résultats avec notre technique de PCR « maison » (Burrel *et al.*, J Virol Method, 2012).
- Quantification du génome du VZV dans 60 prélèvements de natures différentes : sang total, liquide cébrospinal (LCS) et prélèvements cutanéomuqueux sur milieu de transport. Comparaison des résultats avec notre technique de PCR « maison » (Burrel *et al.*, J Virol Method, 2012).

L'évaluation a été effectuée sur la chaîne Argène Solution (extracteur EMAG et distributeur ESTREAM) avec l'amplificateur LC480 (ROCHE DIAGNOSTICS).

Les résultats de cette évaluation ont permis de montrer les très bonnes performances de cette trousse R-GENE® HSV1&2 et VZV pour l'activité diagnostique et le suivi virologique des infections par les HSV et le VZV. Cette trousse a été depuis mise en place pour l'activité diagnostique dans le laboratoire de virologie de la Pitié-Salpêtrière.

Les résultats de cette évaluation ont été présentés sous forme de poster au congrès européen de virologie (ESCV) à Copenhague en avril 2019 et à la RICAI en décembre 2019.

Evaluation of the new HSV1&2 VZV R-GENE® and the CELL control R-GENE® kits for the quantification of herpes simplex virus 1 genome in bronchoalveolar lavage from patients with bronchopneumonitis



David Boutolleau^{1,2}, Morgane Boivin², Coralie le Clec'h², Isabelle Hourcq², Sonia Burrel^{1,2}

1- Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique (iPLESP), Team 3 THERAVIR, Paris, France

2- AP-HP, Pitié Salpêtrière-Charles Foix University Hospital, Virology Department, National Reference Center for Herpesviruses, Paris, France

INTRODUCTION

In immunocompetent patients undergoing prolonged mechanical ventilation, herpes simplex virus 1 (HSV-1) may reactivate in the oropharynx and contaminate gradually the lower respiratory tract, leading to bronchopneumonitis (BPn). We previously showed that HSV-1 load in bronchoalveolar lavage (BAL) above 80.000 copies/million of cells was predictive of the onset of BPn in patients from intensive care unit [1]. The objective of this study was to evaluate the new HSV1&2 VZV R-GENE® kit (reference 69-014B under development) and the CELL control R-GENE® kit (ARGENE®, BIOMERIEUX) in comparison to the routine real-time PCR laboratory-developed tests (LDTs) implemented in the National Reference Center for Herpesviruses for the quantification of HSV-1 genome and cells in BALs.

PATIENTS AND METHODS

Fifty sequential BALs from 18 different patients were analyzed. Nucleic acid extraction was performed using EMAG® (BIOMERIEUX), assay set-up using ESTREAM® (BIOMERIEUX), and DNA amplification using LightCycler®480 (ROCHE DIAGNOSTICS). All assays for both HSV-1 genome and cell DNA quantification were performed on the same day with the same nucleic acid eluate, previously stored at -80° C. Commercial assays were performed according to the manufacturer's recommendations, and the LDTs were performed as previously published [2,3]. Methods were compared using MedCalc® and Validation Manager™ softwares.

RESULTS

No PCR inhibition was observed. The analysis of the 50 BALs with R-GENE® kits and LDTs led to a concordance of 100% for the quantification of cells (results expressed in cells/mL) and 94% for the quantification of HSV-1 genome (results expressed in number of copies/mL) (Table 1). The 3 discrepant results corresponded to low HSV-1 loads, below 2.5 log copies/mL. The comparison of the 33 HSV-1-positive BALs showed a good correlation between HSV-1 loads (expressed in copies/million of cells) measured by both techniques (Spearman's coefficient of rank correlation = 0.97; p<0.0001) with an average bias of -0.75 log copies/million of cells (Bland-Altman test) (Table 1 and Figure 1). Kinetics of HSV-1 loads in sequential BALs were similar with both techniques, as exemplified for one patient in Figure 2.

Table 1. Comparison of HSV1&2 VZV R-GENE® and CELL control R-GENE® kits with LDTs for the quantification of HSV-1 genome in BALs.

Parameter	Kit ¹	Concordance	Correlation	
			Spearman test (Rho; p-value)	Bland-Altman test (average bias)
Cell quantification ²	CELL control R-GENE®	100%	Rho=0.96 p<0.0001	+0.37 log
HSV-1 genome quantification ³	HSV1&2 VZV R-GENE®	94%	Rho=0.99 p<0.0001	-0.37 log
HSV-1 genome quantification ⁴	HSV1&2 VZV + CELL control R-GENE®	94%	Rho=0.97 p<0.0001	-0.75 log

¹Results obtained with R-GENE® kits were compared to LDTs. Results were expressed in ²cells/mL, ³HSV-1 copies/mL, ⁴HSV-1 copies/million of cells

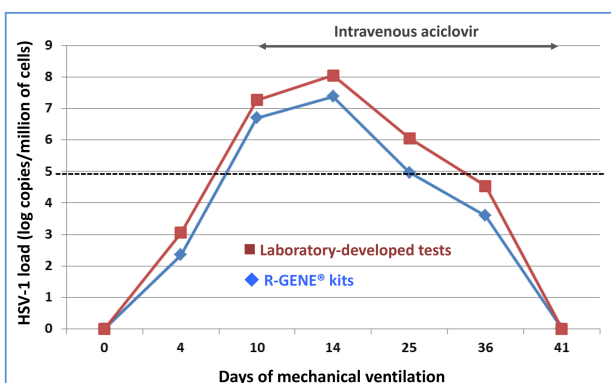


Figure 2. Monitoring of HSV-1 load in BAL. HSV-1 load in sequential BALs from a 57-year-old man undergoing prolonged mechanical ventilation was measured by both methods. HSV-1 bronchopneumonitis (BPn) was treated successfully with intravenous aciclovir. The predictive threshold of HSV-1 BPn previously reported [1] is indicated (black dotted line).

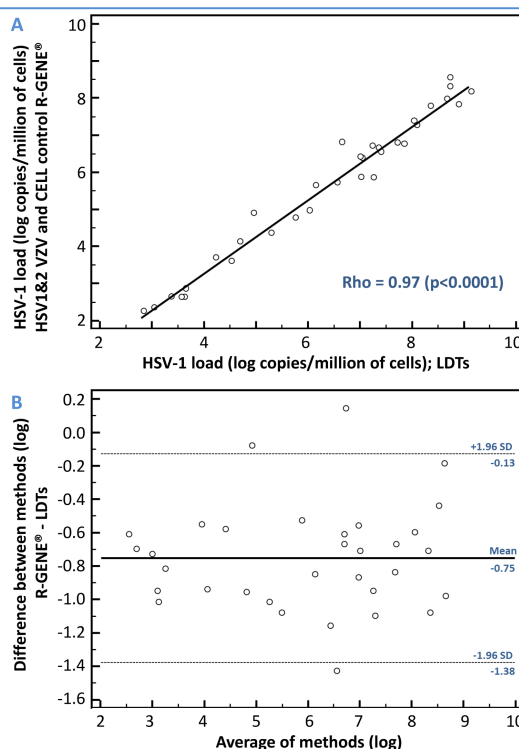


Figure 1. Quantitative comparison of HSV-1 loads obtained from 33 LBAs using HSV1&2 VZV and CELL control R-GENE® kits and LDTs. Spearman rank correlation test (A) and Bland-Altman test (B) were performed using Medcalc® software. SD: standard deviation.

CONCLUSION

HSV1&2 VZV R-GENE® and CELL control R-GENE® kits allow the accurate quantification of HSV-1 load in BALs in a routine laboratory setting for the diagnosis and the monitoring of antiviral treatment of HSV-1 BPn among patients undergoing prolonged mechanical ventilation.

REFERENCES

- Luyt CE, Combes A, Deback C, Aubriot-Lorton MH, Nieszowska A, Trouillet JL, Capron F, Agut H, Gibert C, Chastre J. Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 935-942.
- Deback C, Luyt CE, Lespinats S, Depienne C, Boutolleau D, Chastre J, Agut H. Microsatellite analysis of HSV-1 isolates: from oro-pharynx reactivation toward lung infection in patients undergoing mechanical ventilation. J Clin Virol 2010 ; 47 : 313-320.
- Burrel S, Fovet C, Brunet C, Ovaguimian L, Conan F, Kalkias L, Agut H, Boutolleau D. Routine use of duplex real-time PCR assays including a commercial internal control for molecular diagnosis of opportunistic DNA virus infections. J Virol Methods 2012; 185: 136-141

Comparative evaluation of the new HSV1&2 VZV R-GENE® kit and a real-time PCR laboratory-developed test for the detection and quantification of varicella-zoster virus (VZV) genome in clinical samples



David Boutolleau^{1,2}, Morgane Boivin², Coralie le Clec'h², Isabelle Hourcq², Sonia Burrel^{1,2}

1- Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique (iPLESP), Team 3 THERAVIR, Paris, France

2- AP-HP, Pitié Salpêtrière-Charles Foix University Hospital, Virology Department, National Reference Center for Herpesviruses, Paris, France

INTRODUCTION

Varicella-zoster virus (VZV) is a common pathogen responsible for mucocutaneous, neurological, ocular and disseminated infections. Rapid and accurate laboratory diagnosis of VZV infections in a large variety of specimens is essential for optimal clinical and therapeutic management. The objective of this study was to evaluate the new HSV1&2 VZV R-GENE® kit (reference 69-014B under development, ARGENE®, BIOMERIEUX) in comparison to the routine real-time PCR laboratory-developed test (LDT) implemented in the National Reference Center for Herpesviruses for the detection and quantification of VZV genome.

Table 1. Samples tested for the comparison of HSV1&2 VZV R-GENE® kit and LDT for VZV genome detection and quantification.

Sample	VZV negative (n)	VZV positive (n)
Whole bloods	1	15
Mucocutaneous swabs	2	22
CSFs from patients	2	8
Spiked CSFs	0	10
QCMD VZV DNA EQA Programme samples	1	9
Total	6	64

CSF: cerebrospinal fluid; EQA: external quality assessment.

PATIENTS AND METHODS

A total of 70 VZV positive and negative samples were included (Table 1): whole bloods (16), mucocutaneous swabs (24), cerebrospinal fluids (CSFs) from patients (10), VZV-negative CSFs spiked with different concentrations of VZV ATCC strains Webster and Ellen (10), samples from QCMD 2018 VZV DNA EQA Programme (10). Nucleic acid extraction was performed using EMAG® (BIOMERIEUX), assay set-up using ESTREAM® (BIOMERIEUX), and DNA amplification using LightCycler®480 (ROCHE DIAGNOSTICS). Both assays were performed on the same day with the same nucleic acid eluate, previously stored at -80° C. R-GENE® assay was performed according to the manufacturer's recommendations, and LDT was performed as previously published [1]. Methods were compared using MedCalc® and Validation Manager™ softwares.

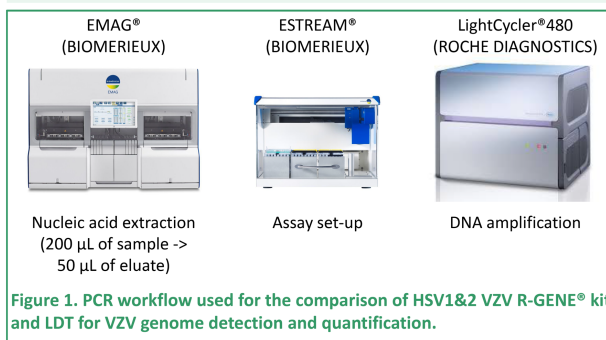


Figure 1. PCR workflow used for the comparison of HSV1&2 VZV R-GENE® kit and LDT for VZV genome detection and quantification.

RESULTS

No PCR inhibition was observed. The concordance between HSV1&2 VZV R-GENE® kit and LDT was 100%. The comparison of the 64 positive samples showed an excellent correlation between the VZV loads measured by both techniques (Spearman's coefficient of rank correlation = 0.98; $p < 0.0001$) with an average bias of -0.28 log copies/mL (Bland-Altman test) (Figure 2). Mucocutaneous swabs were included in the quantitative comparison despite only qualitative results are claimed by the manufacturer for this type of clinical sample. Of note, the average bias obtained with the 8 VZV positive CSFs from 5 distinct patients was higher (-0.79) than the average bias obtained with all other types of tested samples, including spiked CSFs (average bias ranging from -0.10 to -0.30). Further investigations are under progress to explain this phenomenon.

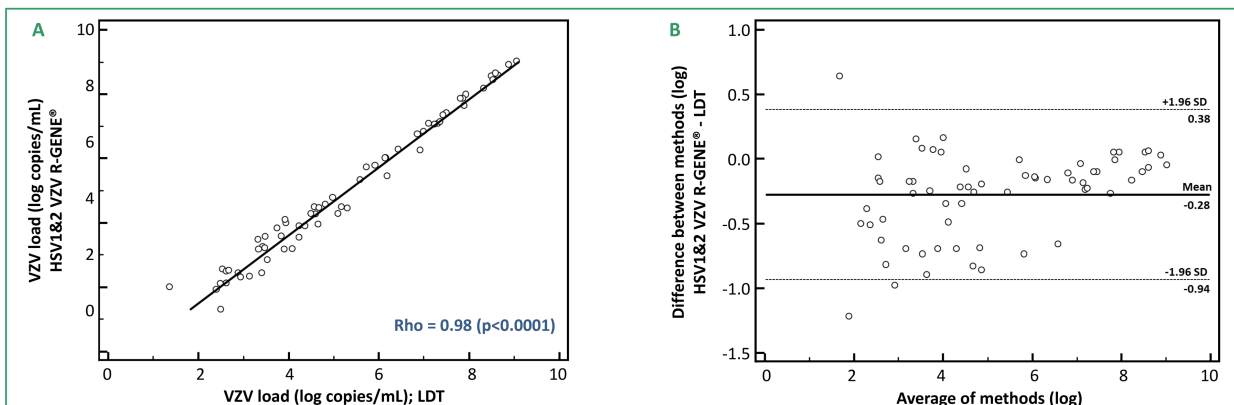


Figure 2. Quantitative comparison of VZV loads obtained from 64 samples using HSV1&2 VZV R-GENE® kit and laboratory-developed test (LDT). Spearman rank correlation test (A) and Bland-Altman test (B) were performed using Medcalc® software. SD: standard deviation.

CONCLUSION

HSV1&2 VZV R-GENE® kit constitutes a suitable method for the detection and quantification of VZV genome in clinical samples in a routine laboratory setting.

REFERENCES

1- Burrel S, Fovet C, Brunet C, Ovaguimian L, Conan F, Kalkias L, Agut H, Boutolleau D. Routine use of duplex real-time PCR assays including a commercial internal control for molecular diagnosis of opportunistic DNA virus infections. J Virol Methods 2012; 185: 136-141.

Adaptation des tests Simplexa® HSV1&2 direct kit et Simplexa® VZV direct kit (DIASORIN)

Nous avons achevé l'évaluation, initiée fin 2018, de l'utilisation de 25 µL de prélèvement de LCS, au lieu des 50 µL préconisés par le fabricant, pour les PCR HSV-1/2 et VZV effectuées avec les tests Simplexa® HSV1&2 et Simplexa® VZV direct kits sur les automates LIAISON MDX. Nous avons comparé les valeurs de Ct obtenues avec les volumes de 25 µL et 50 µL pour 60 prélèvements positifs pour HSV et 60 prélèvements positifs pour VZV (72 LCS et 48 échantillons du contrôle de qualité QCMD). La concordance entre les deux volumes testés était de 100% et les moyennes des différences de valeur de Ct (Ct [25-50]) étaient de -0,1, -0,1 et -0,2 pour HSV-1, HSV-2 et VZV, respectivement. Ces résultats permettent donc valider l'utilisation d'un volume de 25 µL de prélèvement pour la détection dans les LCS des HSV et du VZV avec les tests Simplexa® HSV1&2 et Simplexa® VZV direct kits sur les automates LIAISON MDX. Cette évaluation sera présentée au 31^e congrès ECCMID :

Burrel S, Bomme O, Pertrizeard O, Piot JC, Le Labousse B, Hamm N, Chicaud E, Boutolleau D. **Validation of Simplexa™ HSV 1 & 2 Direct and Simplexa™ VZV Direct kits for HSV and VZV detection from low-volume cerebrospinal fluid samples**. Online meeting. 9 - 12 juillet 2021.

Trousse Allplex™ Genital Ulcer Assay (Seegene)

Cette étude a été pilotée par le CNR IST bactériennes – LA de Cochin pour la Syphilis, dirigé par le Pr Nicolas DUPIN. Au CNR Herpèsvirus – LA de la Pitié-Salpêtrière, nous avons vérifié les résultats obtenus pour la détection des HSV par la trousse Allplex™ Genital Ulcer Assay à l'aide des techniques implémentées dans notre laboratoire. La concordance était de 97,5%. Cette évaluation a fait l'objet de la publication scientifique suivante :

Grange P, Jary A, Isnard C, Burrel S, Boutolleau D, Touati A, Bébéar C, Saule J, Martinet P, Robert JL, Moulene D, Vermersch-Langlin A, Benhaddou N, Janier M, Dupin N. **Use of a multiplex PCR assay to assess the presence of sexually transmitted microorganisms in mucocutaneous ulcerations in patients with suspected syphilis**. *J Clin Microbiol* 2021 ; 59 : e01994-20.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Laboratoire CNR Limoges :

- transfert de la technologie des Bacmides au laboratoire de virologie de l'Université de Barcelone (Pr Marcos-Angeles) avec accueil d'une doctorante de l'université de Barcelone au laboratoire et publication commune (Santos, JID 2021).
- Transfert des amorces de séquençage du gène *UL56* du CMV au laboratoire associé Pitié Salpêtrière.

Laboratoire associé Necker :

PCR CMV « maison » transférée au laboratoire de l'hôpital Mère-enfant d'Hanoi dans le cadre de l'étude CYMEVIE

2.4 Collections de matériel biologique

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

Il n'y a pas d'incorporation de nouvelle collection en 2019-2020.

2.4.1 Laboratoire CNR Limoges

L'ensemble de la collection est présenté en annexe 1.4. Seules les modifications sont rapportées ici. Les collections sont progressivement répertoriées dans le CRB du CHU de Limoges CRBioLim (N° Certification NF S96-900 : 140787/1258F)

Biothèque propre du laboratoire de Virologie de Limoges pouvant être utilisée dans le laboratoire à des fins d'expertises :

- Environ 5 000 échantillons (0,5 à 2 ml) de sang total PCR CMV positive conservés à -80°C (tri des échantillons chaque année par le personnel du CNR).

Biothèque spécifique au CNR :

Pas de modification significative des biothèques du CNR à l'exception des entrées et cessions de la collection CNR. Les collections sont progressivement répertoriées dans le CRB du CHU de Limoges CRBioLim (N° Certification NF S96-900 : 140787/1258F) voir annexe 1.4

Entrées et cessions CRBioLim 2019 et 2020

Destinataires : Industriels, QCMD (surnageant de souches virales), Recherche (souches CMV pour Préparation d'ADN par méthode de Hirt et analyse NGS)

Pour 2019:

Collection	Nombre de patients donneurs en 2019	Nombre de ressources primaires entrées en 2019	Nombre de tubes entrés en 2019	Nombre total de donneurs au 31/12/2019	Nombre total de ressources primaires au 31/12/2019	Nombre total d'échantillons au 31/12/2019	Cession: patients	Cession: ressources primaires	Cessions: échantillons
Sang total épisode viral	292	1321	3197	549	1774	4666	11	87	184
Souche CNR	0	0	0	73	75	165	5	6	6
HSV	58	63	128	124	140	374	0	0	0
Plasma épisode viral	0	0	0	0	0	0	0	0	0

cessions 2018-021 et 2019-010

cessions 2018-021 et 2019-011

Pour 2020 :

Collection	Nombre de patients donneurs en 2020	Nombre de ressources primaires entrées en 2020	Nombre de tubes entrés en 2020	Nombre total de donneurs au 31/12/2020	Nombre total de ressources primaires au 31/12/2020	Nombre total d'échantillons au 31/12/2020	Cession: patients	Cession: ressources primaires	Cessions: échantillons
Sang total épisode viral	0	0	0	549	1774	4666	22	286	292
Souche CNR	9	10	20	97	100	227	0	0	0
HSV	31	33	66	149	169	338	0	0	0
Plasma épisode viral	50	66	118	50	66	118	0	0	0
LCR CMV+ hors collection							1	1	1
LBA CMV+ hors collection							26	26	26
Plasmas CMV+ hors collection							20	20	20

cession 2020-10

cession 2019-001

cession 2019-001

cession 2019-001

Autres évolutions sur les ressources conservées dans la collection du CNR :

1372 prélèvements ont été adressés pour expertise au CNR en 2019 et 2020 et mis en biothèque :

Prélèvements adressés au CNR sang total, plasma, LCR, pour génotype de résistance et mis en collection : 910 : (455 en 2019 et 455 en 2020) (1988 de 2006 à 2018)

Prélèvements adressés au CNR pour expertise d'infection congénitale et mis en biothèque en 2019 et 2020 : 462 (262 (2019) et 200 (2020)) échantillons de sérums pour avidité CMV, sang total ou sérum pour PCR, chez une femme enceinte pour recherche de primo infection ou de réactivation /réinfection, ou carton de Guthrie pour diagnostic tardif d'infection congénitale.

Prélèvements adressés au CNR pour test quantiféron CMV : 104 en 2019 et 99 en 2020

Des bacmides sont construits pour chaque nouvelle mutation détectée sur le génome du CMV.

Bacmides recombinants CMV : 31 en 2019 et 14 en 2020.

L'activité de culture cellulaire a été suspendue ou fortement ralentie en 2020 en raison de la mobilisation des locaux pour le Covid.

2.4.2 Laboratoire associé Necker

Biothèque propre du laboratoire de Virologie de Necker pouvant être utilisée dans le laboratoire à des fins d'expertises :

- Environ 3000 échantillons (0.5 à 2 ml) de sang total PCR CMV positive conservés à -80°C

Biothèque spécifique du CNR constituée de 2006 à 2020 :

- Souchothèque : cellules MRC5 infectées conservées à -80°C: **298 souches** (3 aliquots par souche) responsables d'infection materno-fœtale isolées de liquide amniotique ou d'urine de nouveau-nés.
- **2208 prélèvements de liquides amniotiques** testés en PCR CMV dont **327 positifs**. Ces prélèvements sont conservés à -80°C.
- **147 prélèvements de sang fœtal total positifs** conservés à -80°C.
- **270 échantillons d'urine** PCR CMV positive conservés à -80°C.
- **15340 échantillons salivaires** obtenus de nouveau-nés et caractérisés en PCR CMV dont environ **840 positifs en PCR CMV**. Ces prélèvements sont conservés à -80°C.
- **1000 échantillons de sérum** obtenus chez des femmes enceintes en primo-infection et dont les caractéristiques (IgG et IgM et avidité des IgG) sont bien répertoriées. Ces sérums sont conservés à -20°C

- **1644 échantillons de sang séché sur carton de Guthrie** caractérisés en PCR CMV : dont 1019 PCR CMV négative provenant de nouveau-nés non infectés et **204 PCR CMV positive** obtenus de nouveau-nés infectés par le CMV. Ces échantillons sont conservés à température ambiante.

Des échantillons ont été cédés à d'autres laboratoires ou fabricants

Echantillons de salive : laboratoire de Virologie du CHU d'Amiens

Echantillons de liquide amniotique et de salive à Biomérieux (recherche et développement)

Echantillons de sérums de primo-infection maternelle : Perkin Elmer

2.4.3 Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

La biothèque du laboratoire de Virologie de la Pitié-Salpêtrière comprend l'ensemble des prélèvements biologiques positifs en PCR HSV et en PCR VZV (depuis 2012) ainsi que l'ensemble des souches de HSV-1, HSV-2 et VZV isolées en culture cellulaire (depuis 2010). Pour les années 2019 et 2020, cela représente environ 2000 prélèvements: LCS, LBA, prélèvements cutanéomuqueux, prélèvements génitaux, prélèvements oculaires...

Ces prélèvements incluent également l'ensemble des prélèvements testés au laboratoire pour la recherche de résistance des HSV, du VZV, ou du CMV aux antiviraux. Par ailleurs, en 2019, environ 200 souches virales (HSV et VZV) ont été stockées. En 2020, du fait de la pandémie de COVID-19 et de la ré-organisation du laboratoire P2 de virologie pour le seul traitement des prélèvements biologiques suspectés d'être positifs pour le SARS-CoV-2, et non plus pour la culture cellulaire, l'activité d'isolement des souches virales a dû être momentanément suspendue.

Par ailleurs, dans le cadre de **l'étude nationale rétrospective** (2014 - 2018), baptisée **RetroAlpha 14-18**, menée auprès de 49 laboratoires de virologie de France métropolitaine et d'Outre-mer (réseau *French HSV VZV Study Group*) sur les infections neuroméningées dues aux alphaherpèsvirus (HSV et VZV), une biothèque de près de **350** reliquats de prélèvements de LCS positifs en HSV ou en VZV, prélevés dans le cadre du soin médical, a pu être constituée grâce à certains laboratoires du réseau. Une étude génomique virale (séquençage de génome entier) va être conduite à partir de ces LCS afin d'identifier de potentiels facteurs de neurovirulence des alphaherpèsvirus (*cf.* paragraphe 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance).

2.5 Activités d'expertise

Il n'y a pas d'évolution notable dans le volume des activités d'expertise demandées en routine au CNR et ce malgré l'épidémie de covid.

Le délai moyen de rendu des analyses aux laboratoires demandeurs est conforme aux exigences de la norme 15189.

2.5.1 Laboratoire CNR Limoges

Concernant l'infection congénitale à CMV :

En 2019 le laboratoire a reçu

85 échantillons de sérum pour mesure de l'avidité chez une femme enceinte : n= 54 demandes externes + 31 du CHU

9 femmes enceintes avec avidité en faveur d'une primo-infection

131 urines/salives de nouveau-nés **pour diagnostic d'infection congénitale à CMV :** 2 positifs

1 : Infection congénitale avec RCIU important : ttt VGCV pendant 2 mois avec une interruption d'un mois pour toxicité hématologique. Pas de retard mental à 1 an, examen ORL sans particularité.

2: Infection congénitale sans complication à 6 mois

Et 66 cartons de Guthrie : 1 positif

En 2020, le laboratoire a reçu

148 échantillons de sérums pour confirmation diagnostique de primo-infection CMV dont 110 hors CHU de Limoges. Sur ces sérums l'avidité et les IgM sont mesurés par la technique Diasorin Liaison XL, pouvant être complété par une avidité mesurée

en technique Vidas pour les situations complexes ou les laboratoires ayant déjà réalisé l'avidité en technique Diasorin sur leur site et souhaitant une expertise complémentaire (n=32).

Surveillance des résistances :

Recherche de résistance HSV : 23 en 2019 et 18 en 2020

Recherche de résistance VZV : 2 en 2019, 6 en 2020

Recherche de résistance CMV : 296 en 2019 et 259 en 2020

Surveillance des anti-CMV : dosages de ganciclovir dans le plasma : 36 en 2019 et 32 en 2020 ; dosages de letermovir dans le sang total : 10 en 2020

Bilan de la réponse immune anti-CMV par Test quantiféron™ CMV (Dia Sorin) : 104 en 2019 et 99 en 2020

Surveillance des infections à HSV :

2019 : 491 LCR, 1 positif (Méningite à HSV1, évolution favorable)

2020 : 470 PCR dans le LCR : 5 LCR positifs à HSV1 et 4 positifs à HSV2

Cas positifs à HSV1 : tableaux classiques de méningo-encéphalites à HSV1, traitées par ACV chez des hommes de plus de 65 ans avec hypercellularité à prédominance lymphocytaire dans le LCR. Deux évolutions favorables sans séquelle. Trois issues non connues.

Cas positifs à HSV2 : 2 tableaux de méningite lymphocytaire d'évolution favorable sans traitement chez deux femmes de moins de 40 ans. Un tableau d'encéphalite chez un homme âgé de 82 ans au cours d'une hospitalisation pour troubles digestifs avec aggravation progressive des fonctions supérieures. Retour à la normale sous traitement par ACV. Un cas adressé pour expertise d'un résultat trouvé positif dans un laboratoire polyvalent.

147 PCR sur prélèvements ophtalmologiques : 9 positifs à HSV1 et 1 à HSV2 (positifs sur 8 prélèvements séquentiels sans mutation s de résistance à l'ACV).

35 prélèvements respiratoires (LBA essentiellement) : 7 positifs HSV1 et 1 à HSV2

98 PCR sur sang total : aucun positif

14 PCR sur biopsies : aucun positif

43 prélèvements reçus pour diagnostic dans le cadre de lésions cutanéomuqueuses.

22 prélèvements positifs : 14 à HSV1 et 8 à HSV2

77 prélèvements réalisés chez les nouveau-nés de mère séropositive pour HSV 1 ou 2 ou ayant des antécédents d'herpès cutanéomuqueux au CHU de Limoges. La PCR HSV est réalisée en parallèle sur prélèvements conjonctivaux, nasaux et pharyngés : aucun dépistage positif en faveur d'un herpès néonatal.

2.5.2 Laboratoire associé Necker

Activités d'expertise Necker 2019/2020	Sérologie maternelle IgG, IgM et IgG avidité	Diagnostic prénatal PCR CMV liquide amniotique, sang fœtal, biopsie trophoblaste	Diagnostic néonatal PCR CMV salivaire	Diagnostic post natal PCR CMV sang séché Guthrie
Nombre total (2019 /2020)	619 (233/153)	555 (264/325)	2140 (1159/981)	444 (229/215)
Provenance	Ile de France (APHP, CHG, LABM)	APHP, Foch, Hôpital Américain, Amiens, Orléans	Ile de France (APHP, CHG)	Ile de France, Caen, Rouen, Brest, Rennes, Nantes, Toulouse, Grenoble, Lille, Réunion, Reims, Nancy, Lyon, St Etienne, Mayotte CHU, CHG, ORL ville, CAMPS
Délai de rendu moyen	4 jours	2 jours	2 jours	3 semaines
Caractéristiques des cas	119 primo-infections du 1 ^{er} trimestre ou périconceptionnelle	37 fœtus infectés après infection maternelle T1 -4 IMG pour anomalies cérébrales sévères -1 IMG pour détresse maternelle -1 mort fœtale in utéro -5 enfants symptomatiques (2 avec surdité bilatérale, 3 avec surdité unilatérale, 1 tableau neurologique) -26 enfants asymptomatiques	50 positifs	54 positifs -25 cas de surdité -5 tableaux neurologiques -16 confirmations d'infection congénitale chez enfants asymptomatiques -8 non documentées

2.5.3 Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

Infections par HSV ou VZV

Dans le cadre de son activité d'expertise, le laboratoire de Virologie de la Pitié-Salpêtrière a réalisé au cours de la période 2019-2020 :

- Environ 70 sérologies HSV ou VZV à effectuer sur des sérums en provenance de laboratoires extérieurs (CHU, CH, privés) pour contrôler des résultats obtenus par une autre technique ou pour effectuer la sérologie différenciée HSV-1/HSV-2.
- Environ 20 contrôles de PCR HSV ou VZV à effectuer sur des prélèvements biologiques divers (LCS, cutanéomuqueux, LBA...) en provenance de laboratoires extérieurs (CHU, CH, privés), notamment pour confirmer (ou non) des résultats obtenus avec le panel méningoencéphalite BioFire (BIOMERIEUX).
- Environ 50 PCR HSV à effectuer sur des prélèvements de sang total en provenance de laboratoires extérieurs ne traitant pas ce type de matrice biologique.
- 11 échantillons biologiques (LCS, cutanéomuqueux) pour génotypage du VZV et identification du caractère sauvage ou vaccinal de la souche virale : 8 prélèvements ont été reçus dans le cadre du programme européen de VZVIP (*Varicella-Zoster Virus Identification Programme*) pour lequel nous avons mis en place une collaboration avec le laboratoire MSD Vaccins, et 3 prélèvements nous ont été envoyés par des laboratoires d'autres CHU (Necker, Genève). Au total, nous avons identifié 10 souches sauvages et une souche vaccinale. La souche vaccinale a été identifiée chez un adolescent immunocompétent de 12 ans présentant des signes

de méningite sans éruption cutanée associée. Il avait été vacciné contre la varicelle aux Etats-Unis à l'âge de 2 ans.

Infections à HHV-6

L'activité HHV-6 du laboratoire associé au CNR Herpesvirus des Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix est effectuée par le Pr Agnès GAUTHERET-DEJEAN. Elle consiste, d'une part, à identifier les formes intégrées du HHV-6 (iciHHV-6) par quantification de la charge virale principalement dans les follicules pileux et les ongles.

- En 2019-2020, nous avons effectué des recherches d'HHV-6 pour 17 (2020) patients. Les prélèvements reçus ont été les suivants : Follicules pileux, ongles, les deux, ou sang total.
- La charge virale pour l'ensemble de ces prélèvements a été en faveur de la présence d'une forme intégrée de HHV-6 chez ces patients.
- Cette confirmation de la présence d'une forme intégrée chez un patient permet de faire le diagnostic différentiel avec une infection hautement active, ce qui est parfois observé chez des patients greffés de cellules souches hématopoïétiques, et d'éviter d'instaurer un traitement antiviral dont la toxicité est élevée.

2.5.4 Organisation des contrôles de qualité inter-laboratoires

Laboratoire associé Pitié Salpêtrière :

En 2019, du fait du lancement auprès des 49 laboratoires du réseau « HSV VZV French Study Group » de l'étude RetroAlpha 14-18 (cf. paragraphe 3-5. Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance), le CNR Herpèsvirus – LA Pitié-salpêtrière a décidé, contrairement aux années précédentes, de ne pas organiser de contrôles de qualité interlaboratoires (i) pour la détection et la quantification des herpèsvirus et (ii) pour le diagnostic de la résistance des HSV aux antiviraux par méthodes génotypiques et phénotypiques. En 2020, l'organisation de ces contrôles de qualité n'a pas été possible du fait du surcroît d'activité lié à la pandémie de COVID-19.

Laboratoire CNR Limoges :

Le contrôle de qualité sur liquide amniotique pour le diagnostic de l'infection congénitale à CMV, prévu en 2020 a été reporté à fin 2021 du fait de la pandémie Covid 19.

Un contrôle de qualité de charge virale TTV est également en préparation.

Les deux laboratoires ont maintenu leur contribution en souches et l'expertise du panel choisi par le QCMD pour les contrôles de qualités portant sur les résistances aux antiviraux de HSV et CMV.

2.6 Activités de séquençage

2.6.1 Laboratoire CNR Limoges

Le laboratoire CNR réserve le séquençage haut débit à l'analyse de l'émergence des souches résistantes, à la vérification de l'absence de résistances, ainsi qu'à la caractérisation de génome entier du CMV sans amplification préalable (travail en cours de soumission). Le séquençage par la technologie nanopore Minlon étant moins sensible (cf détail des méthodes dans le rapport 2018) nous avons conservé la technologie Ion Torrent, et fait évoluer notre équipement vers un proton S5 plus, permettant d'analyser des fragments longs, de 700 bases. Nous avons également un accès facilité au MiSeq Illumina pour les techniques de capture. Nous réservons la technologie nanopore à la vérification d'agencement de mutations multiples et à la détection de recombinaisons.

La méthode développée pour la caractérisation du génome entier du CMV, à partir des souches, ainsi que le pipeline développé par notre ingénieur V Tilloy, a été appliquée à l'EBV (cf liste des publications, Bayda N., Tilloy V. et al, Cancers, 2021), et à quelques souches d'HSV ou de VZV et pourra être utilisée en collaboration avec le Laboratoire associé Pitié Salpêtrière ou de Grenoble.

- En 2019 nous avons séquencé 45 échantillons pour recherche de résistance CMV en NGS (gènes *UL97, -54, -56,-89*). Et effectué 17 analyses de génome entier de CMV. Nous avons analysé par transcriptomique 13 échantillons de placenta de mère CMV-séropositive avec et sans éclampsie. Les résultats seront soumis au prochain congrès CMV congénital de l'ECCL.
- En 2020, du fait de la monopolisation des moyens humains et techniques pour le Covid, nous avons limité les analyses NGS aux génomes entiers de CMV et à l'étude de l'émergence des résistances au letermovir ou au maribavir (certains résultats ont été publiés en 2020 (Alain et al., JAC 2020). Nous avons séquencé 66 échantillons pour recherche de résistance CMV en NGS (gènes *UL97, -54, -56,-89*). Et effectué 9 analyses de génome entier de CMV
- Nous avons ainsi mis à disposition à ce jour dans la GenBANK 35 sequences de genome entier de CMV provenant essentiellement des hôpitaux de Lyon et de Limoges, et un article est en préparation.
- En 2020, conformément à la vocation des plateformes NGS des CNRs de proposer leurs moyens à d'autres applications microbiologiques, nous avons mis en place un pipeline d'analyse pour le séquençage du génome du SARS-COV2 (Tilloy V. et al., en préparation) et aidé les équipes en place à développer le séquençage ampliseq du SARS-COV2.

2.6.2 Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

Nous utilisons le séquençage Sanger pour le diagnostic de la résistance des herpèsvirus aux antiviraux. En 2019-2020, le nombre de demandes reçues au laboratoire était de 280 pour le CMV, 237 pour les HSV-1 et HSV-2, et 51 pour le VZV.

Dans le cadre d'une collaboration avec le Dr Christophe Rodriguez (Plateforme de caractérisation des génomes microbiens par séquençage haut-débit, Service de Virologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil), nous effectuons différentes études en utilisant la technologie NGS (MiSeq® Illumina) :

- Séquençage NGS ciblé pour la résistance des HSV aux antiviraux : ce travail a donné lieu à la publication suivante : Mercier-Darty M, [Boutolleau D](#), Rodriguez C, [Burrel S](#). **Added value of ultra-deep sequencing (UDS) approach for detection of genotypic antiviral resistance of herpes simplex virus (HSV)**. *Antiviral Res* 2019 ; 168 : 128-133.
- Etude transcriptomique de prélèvements génitaux positifs pour HSV-1 ou pour HSV-2. Ce travail est actuellement en cours de soumission pour publication.
- Etude génomique virale (séquençage génome complet) et étude transcriptomique des prélèvements de LCS positifs pour HSV-1, HSV-2 ou VZV. Il s'agit d'une partie de l'étude RetroAlpha 14-18 (*cf3.5* Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance).

Nous poursuivons aussi notre collaboration avec Sébastien Calvignac-Spencer (Institut Robert Koch, Berlin, Allemagne) et, désormais, Joel Wertheim (Université de Californie, San Diego, Etats-Unis) dans le cadre d'études phylogénétiques et phylogéographiques des HSV par une approche de séquençage du génome entier par NGS (MiSeq® Illumina).

Enfin, le laboratoire associé Pitié-Salpêtrière est en train de s'équiper du matériel nécessaire au séquençage haut-débit avec la technologie Gridlon (Oxford Nanopore Technologies) pour effectuer notamment le séquençage des gènes d'intérêt du CMV pour la recherche de mutations de résistance aux antiviraux. A ce jour, cette technologie n'est pas envisagée en première intention pour les HSV et VZV car les mutations de résistance de types insertions ou délétions nucléotidiques, responsables de la résistance aux antiviraux pour ces virus, pourraient ne pas être correctement détectées par cette technologie.

3. Activités de surveillance

3.1 Description du réseau de partenaires

3.1.1 Surveillance des infections maternofoetales à CMV et néonatales à HSV

(laboratoire CNR Limoges + Laboratoire associé Necker)
Responsable : Elodie Ribot ingénieur CNR, Limoges

On note en 2019 et 2020 un élargissement net du réseau de partenaires (102 médecins déclarant sur la plateforme de déclaration en ligne). Le détail du réseau et des évolutions sont présentés en annexe.

Pour la surveillance des infections materno-fœtales et néonatales en 2019 et 2020 (infections néonatales à HSV, infections congénitales à CMV), le réseau de partenaire était composé de 54 CPDPN/obstétriciens, 52 laboratoires, 61 pédiatres et autres spécialités (pour le suivi de l'enfant), réparties dans 43 villes recouvrant les 12 régions de la France métropolitaine et 5 départements d'outremer.

Evolution du réseau de partenaires pour la surveillance des infections néonatales à HSV et des infections congénitales à CMV			
Année	2018	2019	2020
Laboratoires	50	50	52
CPDPN / Obstétriciens	43	51	54
Pédiatres	52	58	61
Médecins ayant un accès à la plateforme Voozano (déclaration en ligne / CMV congénital)	68	91	102

Au sein de ce réseau, 102 médecins ont un accès à la plateforme de déclaration en ligne des infections congénitales à CMV, ce qui représente 34 de plus par rapport à l'année 2018.

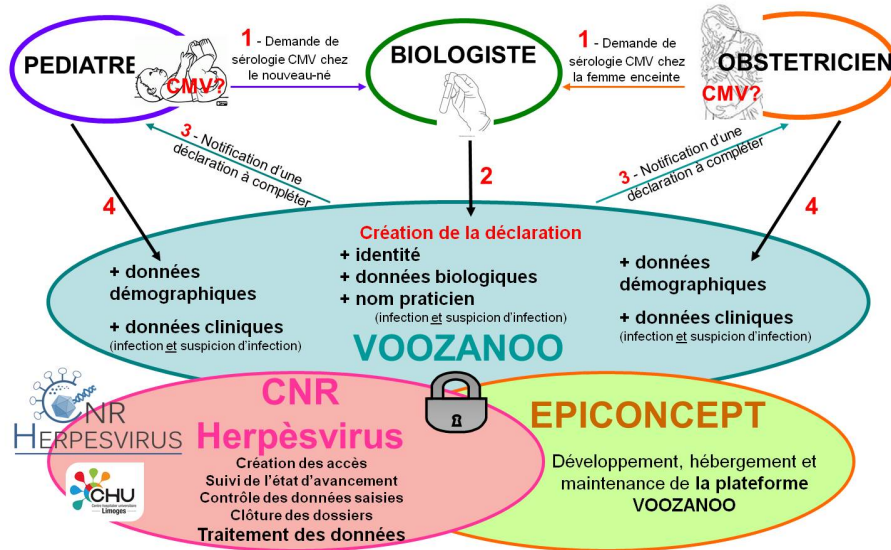
Cf annexe: Réseaux de surveillance : Réseau de partenaires pour le recueil de déclarations et de souches pour les infections materno-fœtales

Cf annexe : Réseaux de surveillance : Réseau de partenaires pour la déclaration en ligne des cas d'infection congénitale à CMV (plateforme Voozano)

Cf site internet de « la Fédération Française des Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal » : <http://www.cpdpn.fr/>

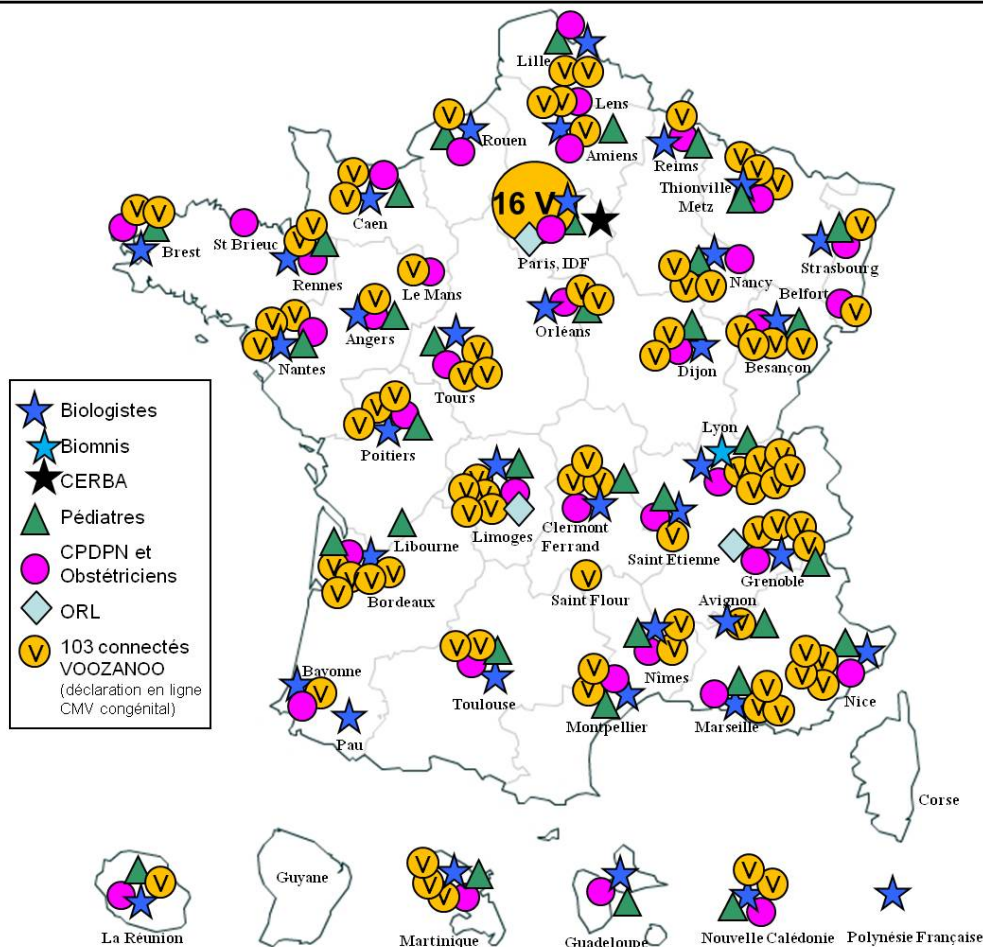
La base CMV congénitale est une base de données nationale utilisant le logiciel VOOZANO, par le laboratoire coordonnateur au CHU de Limoges. Elle est opérationnelle et autorise des développements vers des bases d'imagerie notamment échographique ou RMN permettant également aux praticiens de confronter leurs cas cliniques aux cas déjà identifiés. Cette base a reçu l'autorisation du CCTIRC et de la CNIL le 24 Novembre 2015. Le questionnaire en format texte est présenté en annexe.

**Déclaration au CNR des infections et suspicions d'infection par le CMV chez la femme enceinte et le nouveau-né
Procédure en ligne VOOZANOO**



Répartition géographique du réseau au 31 décembre 2020 :

Répartition géographique du réseau de surveillance des infections materno-fœtales en 2020



3.1.2 Surveillance des infections neuroméningées à alphaherpesvirus

(Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière)

En 2019, la mise en place de l'étude RetroAlpha 14-18 (cf 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance) a permis la création et la mise en place d'un réseau français de surveillance des infections neurologiques dues aux HSV et au VZV : le « *HSV VZV French Study Group* ». Ce réseau est constitué de 49 laboratoires répartis sur l'ensemble du territoire national (47 en Métropole et 2 en Outre-Mer) : 10 CHU AP-HP, 26 CHU hors AP-HP, 10 CH, 1 HIA, 2 laboratoires privés

Laboratoire	Biologiste	Laboratoire	Biologiste
AMIENS-PICARDIE	Patricia ZAWADZKI	EUROFINS BIOMNIS	Véronique JACOMO
	Sandrine CASTELAIN		Xavier NAUDOT
	Christine SEGARD	FOCH	Eric FARFOUR
ANGERS	Alexandra DUCANCELLE	GRAND HOPITAL DE L'EST PARISIEN	Yannick COSTA
	Hélène LE GUILLOU-GUILLEMETTE		Frédéric FAIBIS
AP-HM LA TIMONE	Céline GAZIN	GRENOBLE ALPES	Raphaële GERMI
	Christine ZANDOTTI		Julien LUPO
	Laetitia NINOVE		Patrice MORAND
AP-HP BICHAT	Nadhira FIDOUH	LA MARTINIQUE	Fatiha NAJIOULLAH
	Benoît VISSEAUX	LILLE	Mouna LAZREK
AP-HP COCHIN	Flore ROZENBERG	LIMOGES	Sébastien HANTZ
	Anne-Sophie L'HONNEUR		Sophie ALAIN
AP-HP HENRI MONDOR	Christophe RODRIGUEZ	LONS LE SAUNIER - CH JURA SUD	Lucas DEHOVE
	Slim FOURATI		Fabienne MERMET-JEANVOINE
AP-HP NECKER	Marianne BURGARD	LYON	Geneviève BILLAUD
	Hanène ABID		Florence MORFIN
	Marianne LERUEZ-VILLE		Emilie FROBERT
AP-HP PAUL BROUSSE	Anne-Marie ROQUE AFONSO	METZ-THONVILLE	Pascale PEREZ
	Claire DEBACK	MONTPELLIER	Vincent FOULONGNE
AP-HP PITIE-SALPETRIERE	David BOUTOLLEAU	NANCY	Evelyne SCHVOERER
	Sonia BURREL		Véronique VENARD
AP-HP SAINT ANTOINE	Joël GOZLAN	NANTES	Céline BRESSOLLETTE-BODIN
AP-HP SAINT LOUIS	Jérôme LE GOFF		Berthe-Marie IMBERT
		Nadia MAHJOUB	NICE
AP-HP TENON	Corinne AMIEL	NIMES	Isabelle CANNAVO
	Marine PERRIER		Marie-Josée CARLES
AP-HP TROUSSEAU	Aurélien SCHNURIGER	ORLEANS	Clémence GUILLAUME
	Yanne MICHEL		Jérôme GUINARD
HIA BEGIN	Audrey MERENS	POITIERS	Agnès BEBY-DEFAUX
	Christine BIGAILLON		Nicolas LEVEQUE
BESANCON	Line PEPIN-PUGET	POLYNESIE	Stéphane LASTERE
	Quentin LEPILLER		Valérie SERAZIN

BAYONNE - COTE BASQUE	David LEYSSENE	POISSY SAINT GERMAIN	Christelle ROUILLAC - LE SCILLELLOUR
	Anne-Christine JAOUEN		Charlotte PRONIER
BORDEAUX	Marie-Edith LAFON	RENNES	Gisèle LAGATHU
	Isabelle GARRIGUE		Vincent THIBAUT
	Pascale TRIMOULET		Marie GUEUDIN
BREST	Léa PILORGE	ROUEN-NORMANDIE	Adeline BARON
	Christopher PAYAN		Elodie Alessandri
	Sophie VALLET		Sylvie PILLET
CERBA	Stéphanie HAIM-BOUKOBZA	SAINT-ETIENNE	Bruno POZETTO
	Jean-Dominique POVEDA		Samira FAFI-KREMER
CAEN	Astrid VABRET	STRASBOURG	Morgane SOLIS
	Julia DINA		Floriane GALLAIS
	Stépahnne GOUARIN		Jacques IZOPET
CLERMONT-FERRAND	Christine ARCHIMBAUD-JALLAT	TOULOUSE	Jean-Michel MANSUY
	Cécile HENQUELL		Julien MARLET
	Audrey MIRAND	TOURS	Catherine GAUDY-GRAFFIN
DIJON BOURGOGNE	Alexis de ROUGEMONT	VERSAILLES	Stéphanie MARQUE-JUILLET

3.1.3 Résistances aux antiviraux

Les réseaux n'ont pas été modifiés en 2019 ou 2020. (cf annexes)

Cependant, les déclarations 2019 et 2020 sont plus exhaustives, permettant ainsi de donner des chiffres nationaux de résistance pour les différents Herpesvirus.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

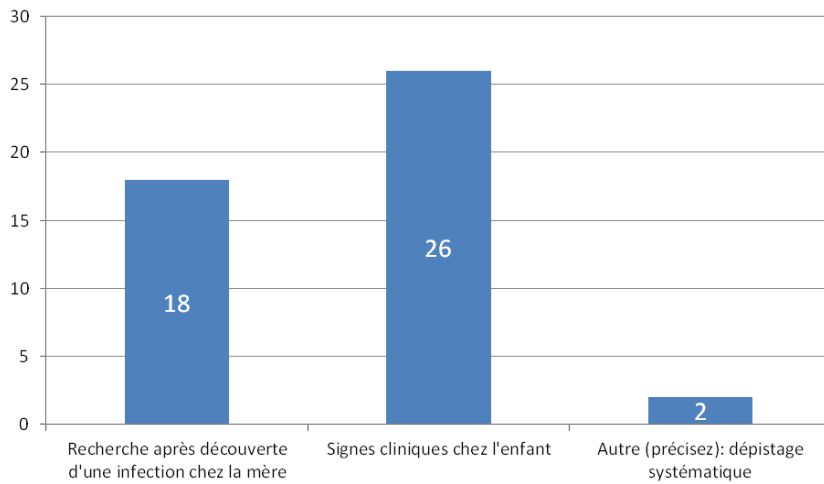
3.2.1 Surveillance des infections néonatales à Herpes simplex

En 2019 et 2020, la fréquence se situe aux alentours de 2,2 cas d'infection néonatale à HSV déclarés pour 10000 naissances :

Nombre de cas de HSV néonatal déclarés	Nombre de naissances annuel dans les centres concernés
42	190325
Incidence	
0,022%	

Dans 56 ,5% des cas, le contexte de la découverte était l'apparition de signes cliniques chez le nouveau-né :

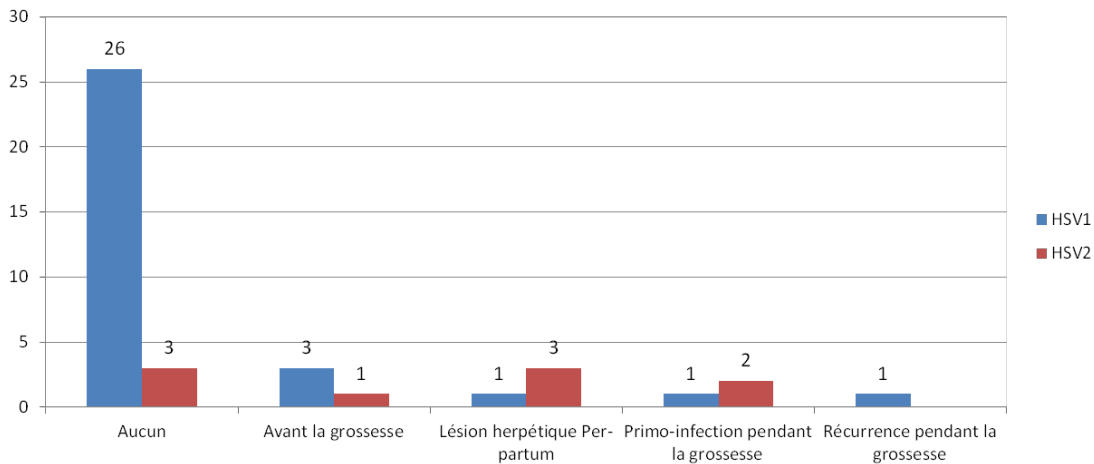
Contexte de la découverte des infections néonatales à HSV déclarés en 2019/2020



Dans 85% des cas, il n'y avait pas d'antécédent maternel d'herpès génital.

En cas de lésion maternelle herpétique génitale per partum et de primo-infection pendant la grossesse, l'infection du nourrisson par HSV2 était supérieure.

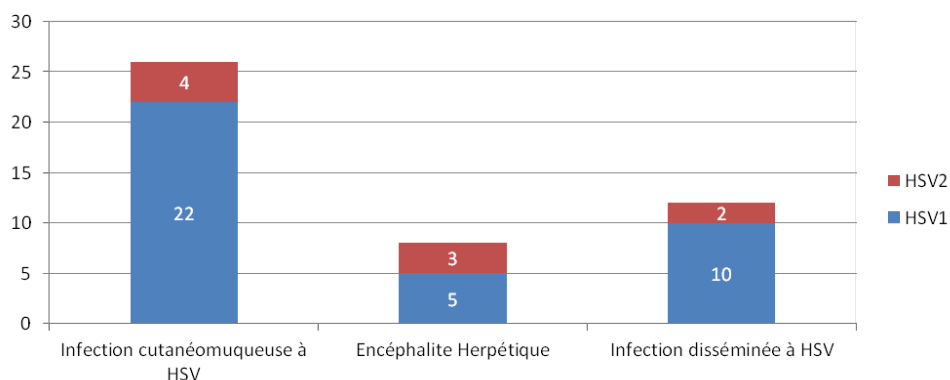
Antécédents maternels d'herpès génital et types d'infection néonatale en 2019/2020



En 2019/2020, ont été déclarés 26 infections cutanéomuqueuses à HSV, 8 encéphalites herpétiques et 12 infections disséminées à HSV.

80,5% de ces infections étaient de type HSV1.

Tableau clinique des infections néonatales à HSV déclarés en 2019/2020



Exemple à partir de deux cas :

Cas du centre hospitalier de la Côte Basque : *infection cutanéomuqueuse à HSV2 découverte à 2 jours de vie dans le cadre d'un dépistage systématique (échantillon oculaire positif). Antécédents maternels de récurrences herpétiques génitales. Absence de récurrence maternelle durant la grossesse mais prophylaxie par Zelitrex 1 mois avant l'accouchement. Pas de lésions maternelles a priori lors de l'accouchement, pas de prélèvement effectué chez la mère. Absence de signe clinique chez l'enfant. Traitement par pommade ophtalmique d'aciclovir. Evolution favorable. Conclusion à un probable portage herpétique simple.*

Cas du CHU d'Amiens : *infection disséminée à HSV1, découverte à 11 jours de vie du nourrisson, dans un contexte de difficulté alimentaire depuis J6 et d'apparition de signes cliniques. Aucun antécédent maternel d'herpès génital, mais herpès labial chez le papa au moment de la naissance. Présence du virus dans le sang, les yeux et le nez. Enfant traité par voie intraveineuse à l'aciclovir. Evolution non favorable : défaillance multiviscérale, acidose métabolique, hyperlactatémie, cytolysse hépatique majeure, thrombopénie, leucopénie, CIVD. Décès du nourrisson à J11.*

Sur les 42 cas d'infection néonatale à HSV déclarés en 2019/2020, tous ont été traités par un antiviral (aciclovir) sauf 1 nourrisson (dont l'évolution clinique n'est pas renseignée – parents perdus de vue).

6 infections ont conduit à la mort du nourrisson, soit 14,3% des cas déclarés. Il s'agissait pour 4 d'entre eux d'une infection disséminée à HSV.

3.2.2 Surveillance nationale des cas d'infection congénitale à CMV

Les résultats de cette surveillance seront soumis au prochain congrès sur le CMV congénital (Rome, 2021).

Fin 2016, a été instaurée la déclaration en ligne sur la Plateforme [Voozanoo™](#) (Epicconcept). Les données maternelles, fœtales et néonatales sont collectées directement sur ce site. La transition vers ce mode de déclaration est encourageante.

Tous les cas ont été saisis dans cette base de données, soit par les médecins, soit par le CNR Herpès Virus à partir de fiches papier, tableur Excel ou comptes rendus d'hospitalisation.

A noter, les fiches papier ont été supprimées fin 2018.

En 2019 et 2020 la très grande majorité des cas sont déclarés en ligne. Seuls deux médecins déclarent sur tableur excel.

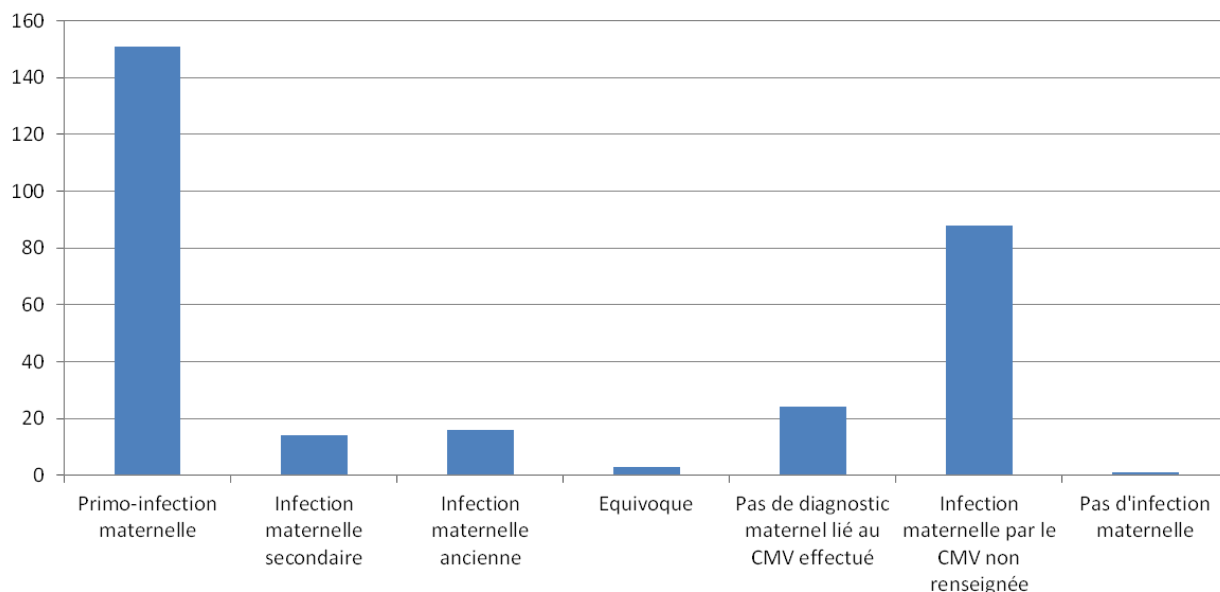
A) En 2019 et 2020

En 2019 et 2020, 297 fiches ont été enregistrées dans la base : 157 en 2019 et 140 en 2020. Elles regroupent :

- Les infections maternelles documentées
- Les suspicions d'infection maternelle
- Les infections diagnostiquées en période anténatale
- Les suspicions d'infection en période anténatale
- Les infections des nouveau-nés
- Les suspicions d'infection des nouveau-nés

Toutes ne sont pas complètement renseignées, selon la période à laquelle de diagnostic a été posé (difficulté à récolter les données sur la grossesse au moment du diagnostic du nouveau-né, grossesses perdues de vue...):

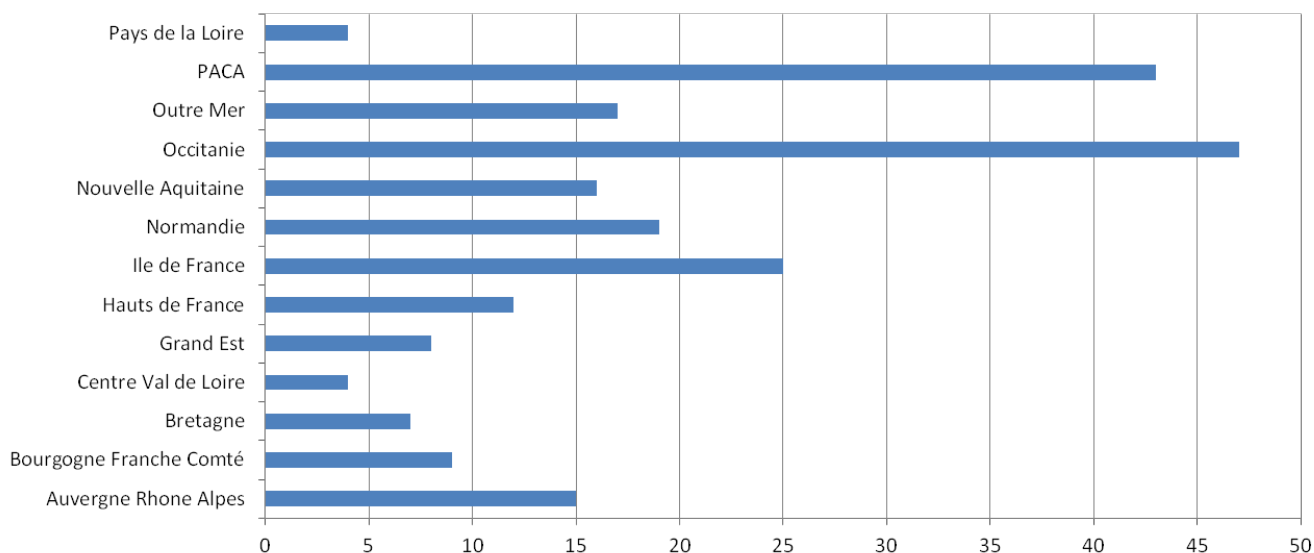
Diagnostic maternel des 297 fiches déclarées en 2019/2020



Au total, en 2019 et 2020, dans la base de données du CNR Herpès Virus, 226 infections congénitales (122 en 2019 et 104 en 2020) ont été recensées soit en cours de grossesse, soit à la naissance :

La répartition des cas dans les différentes régions de France est présentée ci-dessous :

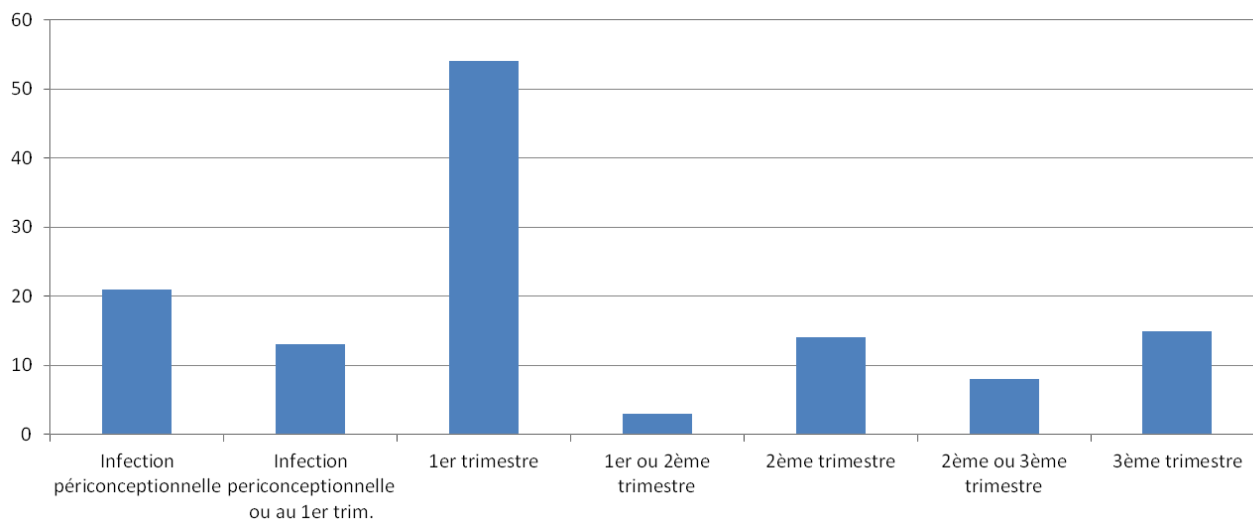
Infections congénitales à CMV déclarées en 2019/2020: répartition régionale



1) Primo-infections maternelles en 2019/2020

Nombre total de **primo-infections maternelles** par le CMV en 2019/2020 : 151 (23 dont le trimestre de séroconversion est non documenté).

Primo-infections maternelles par le CMV en 2019/2020: trimestre d'infection



2) Investigations anténatales en 2019/2020

Parmi les 297 fiches déclarées, 131 ont été le sujet d'investigations anténatales : 68 par imagerie seule, 10 par biologie seule et 53 par les deux types d'investigations.

Sur 63 échographies réalisées et renseignées, sont recensés :

- 16 cas d'anomalies abdominales
- 20 cas d'anomalies cérébrales
- 29 retards de croissance intra-utérine
- 9 cas d'anomalies du liquide amniotique
- 4 cas d'anomalies du placenta
- 1 cas d'anomalie du thorax

46 IRM ont été effectuées et renseignées, qui retrouvent 15 cas d'anomalies cérébrales.

59 amniocentèses ont été réalisées et renseignées, pour lesquelles on retrouve :

- 41 PCR CMV positives
- 6 cultures CMV positives

17 ponctions de sang fœtal ont été réalisées et renseignées, pour lesquelles on retrouve 11 PCR CMV positives.

Au total, 62 diagnostics anténataux ont conclu à une infection congénitale par le CMV : 10 après examen biologique anténatal seul, 12 après imagerie fœtale seule, 40 après les deux types d'investigation.

Par ailleurs, sur les 131 cas qui ont été sujet à des investigations anténatales, 21 ont conclu à **une absence d'infection fœtale**, parmi lesquels 4 cas ont été diagnostiqués à la naissance comme étant des infections congénitales. Ces 4 cas avaient subi des investigations fœtales par imagerie, 1 cas avait subi une amniocentèse qui s'était donc révélée négative.

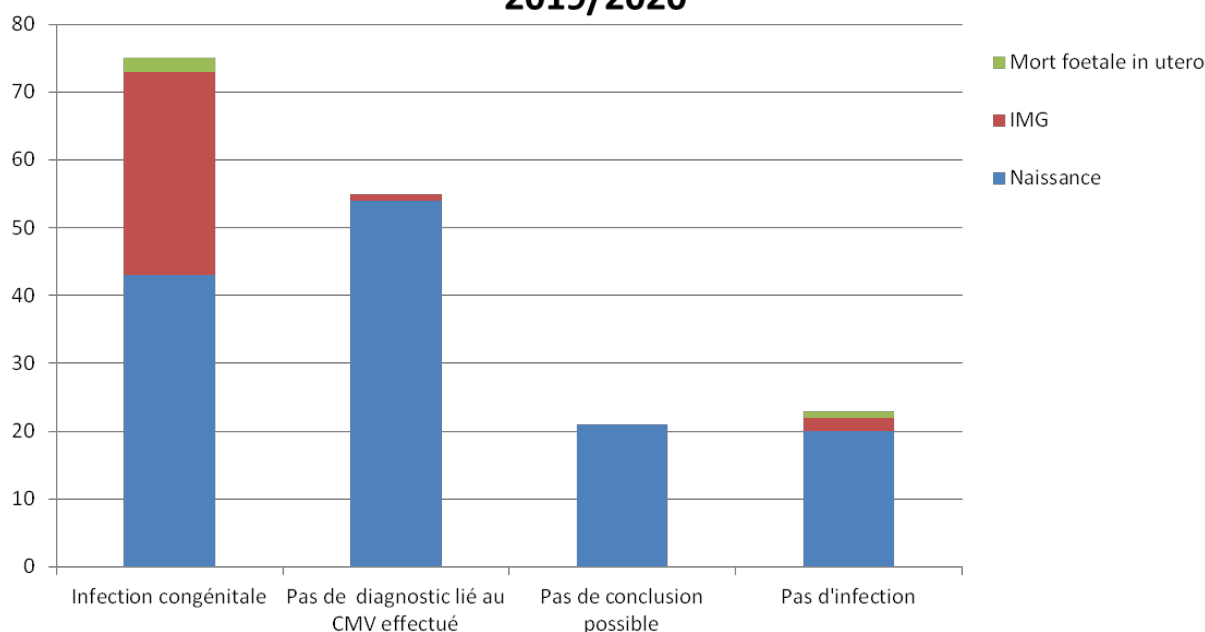
3) Traitement antiviral pendant la grossesse en 2019/2020

19 patientes ont été traitées pendant la grossesse par Valaciclovir. Les issues de grossesse ont été 14 naissances et 5 IMG. 8 enfants sont nés asymptomatiques et 2 avaient une symptomatologie sévère (4 non renseignés).

4) Issue des grossesses en 2019/2020

En 2019/2020, sur le total des 297 déclarations, **260 naissances** ont été répertoriées (dont 43 diagnostics anténataux d'infection congénitale), ainsi que **33 interruptions médicales de grossesse (IMG)**, (31 pour CMV) et **4 mort foetale *in utero* (MFIU)** (3 pour CMV).

Diagnosics anténataux et issues des grossesses en 2019/2020



5) Investigations néonatales

165 recherches d'infection congénitale à CMV à la naissance par **analyses biologiques** ont été recensées :

- 42 PCR CMV sur salive (35 résultats positifs)
- 125 PCR sur sang total (92 résultats positifs)
- 138 PCR CMV sur urines (116 résultats positifs)

Ce qui porte à 226 le nombre total d'infections congénitales diagnostiquées.

101 issues de primo-infection documentées, 18 issues d'infections secondaires, 3 avec des avidités équivoques, 21 sans diagnostic maternel posé, 1 cas concluant à une séronégativité maternelle mais liquide amniotique positif, et 82 non documentées.

6) Symptomatologie des nouveau-nés infectés en 2019/2020

La classification des cas est la suivante :

- infections sévères : cas associés à des signes cérébraux
- infections modérées : cas associés à des signes extra-cérébraux
- infections asymptomatiques
- cas non documentés

A la naissance : Sur **les 226 infections congénitales à CMV**, 31 IMG, et 3 MFIU, 192 enfants nés vivants : **67 nouveau-nés** symptomatiques avec **signes cliniques** d'infection congénitale à CMV à la naissance, 73 asymptomatiques et 83 non documentés.

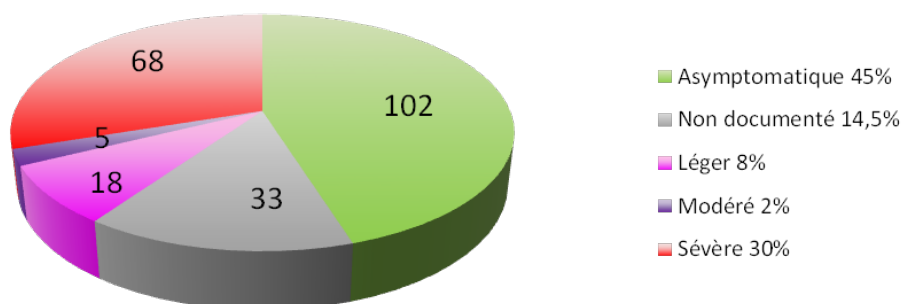
A la déclaration :

Sur ces 226 infections congénitales à CMV, 102 sont **asymptomatiques**, 91 sont **symptomatiques** (18 légers, 5 modérées, 68 **sévères**), et 33 sont non documentés.

Pour 101 primo infections documentées : 34 sévères, 4 légers, 43 asymptomatiques et un non documenté

Pour 18 infections secondaires documentées : 8 asymptomatiques , 7 sévères, et 3 non documentées

Classifications des infections congénitales à CMV déclarées en 2019/2020 (n=226)



Signes cliniques des 91 cas symptomatiques en 2019/2020 :

- 15 cas de surdité à la naissance
- 10 cas de microcéphalie
- 41 cas de RCIU
- 12 naissances prématurées
- 3 cas de purpura
- 2 cas d'hépatosplénomégalie

Aucun cas d'infection congénitale déclaré en 2019/2020 n'a conduit au **décès du nouveau-né**.

7) Traitement des 192 nouveau-nés vivants infectés en 2019/2020

66 n'ont pas été traités

- 57 étaient asymptomatiques,
- 4 étaient symptomatiques légers,
- 3 étaient symptomatiques modéré
- 2 étaient symptomatiques sévères

52 nouveau-nés ont été traités par un antiviral (47 par valganciclovir, 4 par ganciclovir) :

- 16 étaient asymptomatiques,
- 9 étaient symptomatiques légers,
- 2 étaient symptomatique modéré
- 25 étaient symptomatiques sévères

74 ne sont pas documentés

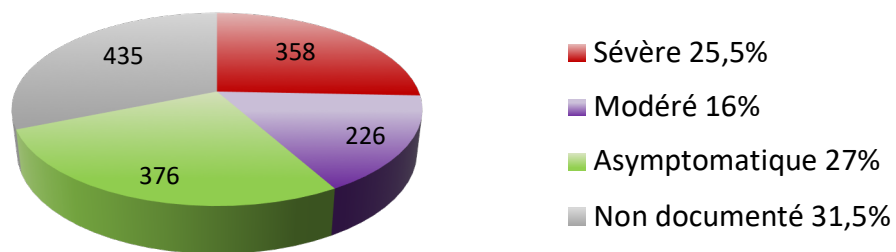
B) Bilan 2006 à 2020

De 2006 à 2020, nous avons recueilli **1395 cas d'infections congénitales à CMV** :

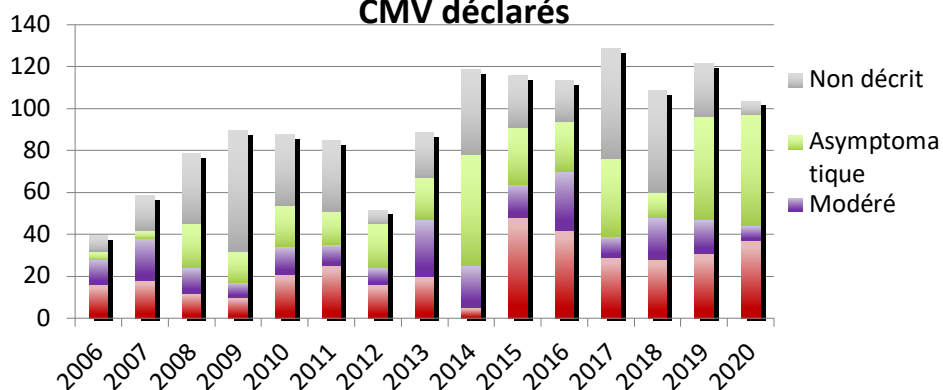
Les cas déclarés ont été classés en fonction des signes cliniques associés

- infections sévères : cas associés à des signes cérébraux
- infections modérées : cas associés à des signes extra-cérébraux
- infections asymptomatiques
- cas non documentés

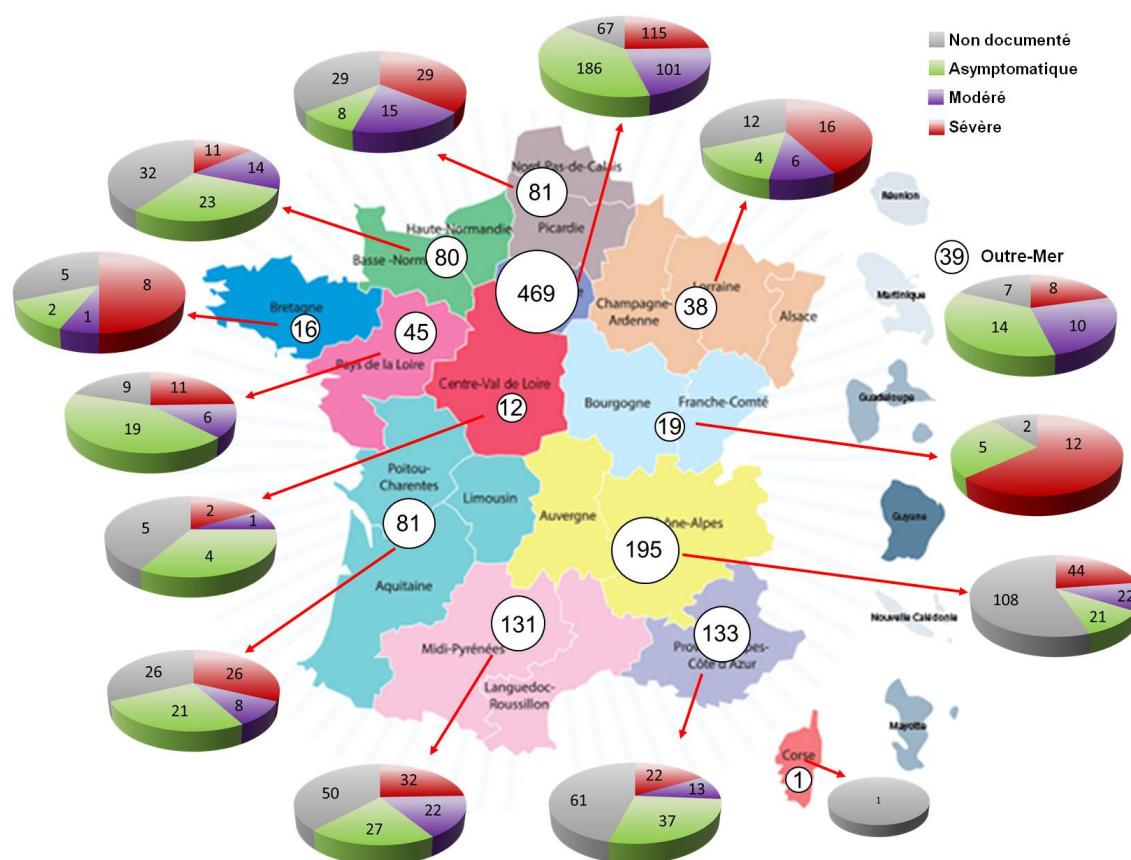
Classification des infections congénitales à CMV déclarées de 2006 à 2020 (n=1395)



Nombre de cas d'infection congénitale par le CMV déclarés



Répartition des cas déclarés d'infection congénitale à CMV sur le territoire français de 2007 à 2020



3.2.3 Épidémiologie des infections à CMV en population générale

(Laboratoire CNR Limoges)

Caractéristiques des primo-infections CMV

Afin de compléter les données épidémiologiques sur l'infection à CMV, Le laboratoire CNR a mis en place une surveillance des primo-infections de l'adulte et de l'enfant hors grossesse. Ce relevé des primo-infections est basé sur les analyses de l'avidité des IgG CMV devant toute présence d'IgM quel que soit le statut du patient. Les prélèvements sont adressés par des laboratoires de biologie médicale privés ou hospitaliers pour avis spécialisé, ou proviennent de l'activité de diagnostic de l'infection à CMV du laboratoire de virologie. **En 2019 nous avons ainsi posé 18 diagnostics de primo-infection, 9 chez des femmes enceintes, 7 avidités en faveur d'une primo-infection chez 2 hommes et 5 femmes non enceintes, 2 primo-infections avec IgM isolés chez des enfants de 4 et 12 ans (tableau de fièvre, rhinorrhée et asthénie). Le bilan des primo-infections de l'année 2020 est de 24 cas diagnostiqués hors suivi de grossesse au CHU. Le sexe ratio est de 22 femmes pour 2 hommes. 15 cas sont des infections survenant en cours de grossesse. Concernant la symptomatologie observée, aucun tableau particulier n'a été relevé en 2020. Les circonstances de découvertes sont très variables : bilans de fièvre isolée ou avec syndrome pseudo-grippal, bilan d'altération de l'état général, hépato-splénomégalie, ou lors de bilans en cours de grossesse adressés pour expertise au CNR.**

Parallèlement à ce recueil, un suivi régulier de la sérologie CMV a été émis en place pour les femmes suivies en gynécologie-obstétrique au CHU de Limoges depuis janvier 2020. Une sérologie CMV (IgG + IgM) est réalisée au 1^{er}, 2^e, 3^e trimestre et à l'accouchement. Toutes les patientes accouchant au CHU de Limoges n'ayant pas un suivi complet au CHU, les 4 prélèvements ne sont pas disponibles pour l'ensemble des patientes accouchant au CHU. 5875 sérologies ont été réalisées dans ce contexte

pour 2871 femmes soit en moyenne 2 prélèvements par patiente. Nous avons mis en évidence une séroprévalence du CMV de 60% dans cette population. Seules 4 patients ont présenté des IgM sans IgG avec parmi les patientes séropositives, 57 patientes présentant des IgM positives et 37 des IgM équivoques. Une avidité des IgG a été réalisée pour ces 114 patientes et 73 PCR ont été réalisées sur le même sérum. 4 patientes avaient une avidité basse et 5 une PCR positive sur sérum. Le dépistage systématique a permis d'identifier au CHU de Limoges 6 patientes ayant contracté une infection à CMV au cours de la grossesse, 5 au cours du premier trimestre et 1 patiente diagnostiquée à l'accouchement. Deux ont pu bénéficier d'un traitement par valaciclovir 8gr/j. L'issue des grossesses n'est disponible que pour 4 patientes, 2 ayant été perdue de vue. Parmi les 4 nouveaux suivis, 2 présentent une infection à CMV dépistée par une PCR positive dans les urines et ont pu être traités par valganciclovir.

Epidémiologie du CMV en crèche

Les résultats du **PHRC CrechMV**, enquête nationale sur la prévalence du CMV en crèche et les facteurs de risque d'excrétion associée à une enquête de pratique dans les crèches et à une enquête sur la connaissance du CMV chez les parents a été publiée en 2020 (Alain et al., JPIDS 2020, cf liste des publications). Sont confirmés : la forte prévalence chez les plus petits, diminuant à partir de 18 mois, ainsi que la charge virale. Est retrouvé notamment comme facteur de risque outre l'âge de l'enfant, la charge de travail du personnel en crèche. Ce qui, associé à un faible niveau d'information des parents (40% avaient entendu parler du CMV) et à une prévalence non négligeable (37% d'excrétion) souligne l'urgence d'information des parents sur les mesures d'hygiène pour prévenir primo-infections et réinfections et confirme cette population comme étant une cible prioritaire vaccinale pour prévenir les primo infections lors d'une grossesse ultérieure.

3.2.4 Infections du système nerveux central par les alphaherpèsvirus HSV et VZV

Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

L'étude **RetroAlpha 14-18** initiée en 2019 par le CNR Herpèsvirus – Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière a pour but de décrire les caractéristiques démographiques, épidémiologiques, biologiques, cliniques et thérapeutiques des patients atteints d'infections du système nerveux central (SNC) dues au HSV-1, au HSV-2 ou au VZV. De plus, une étude génomique virale, réalisée par séquençage du génome viral entier à partir des reliquats de prélèvements de LCS conservés dans certains laboratoires participants, a pour but d'identifier de potentiels facteurs de neurovirulence. Le protocole détaillé de cette étude ainsi que les premiers résultats obtenus sont présentés dans le paragraphe 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance.

3.2.5 Epidémiologie moléculaire du VZV

Laboratoire associé Pitié Salpêtrière

Dans le cadre de sa thèse d'Etat en Médecine, M. Cheminet a développé une méthode d'identification des différents clades de VZV basée sur l'identification de 9 SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) situés dans 3 ORF différentes du génome viral : ORF1, ORF22 et ORF50. Elle a étudié l'épidémiologie moléculaire des souches de VZV isolées au cours de l'année 2018 à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière. Cette étude a permis de montrer que les patients avec une varicelle due au clade 5 étaient plus jeunes que ceux avec une varicelle due clades 1 et 3, ce qui semble indiquer que le clade 5 africain de VZV se transmet plus efficacement au sein de la population et infecte les individus plus tôt au cours de l'enfance. Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment publiés par le CNR HSV VZV d'Allemagne dirigé par le Pr Andrei Sauerbrei. Ces résultats ont fait l'objet d'une présentation à la RICAI en décembre 2019 :

P-251. Epidémiologie moléculaire du virus de la varicelle et du zona (VZV)



Melinda Cheminet ^{1,2}, Sonia Burrel ^{1,2}, David Boutolleau ^{1,2}

1- Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique (iPLESP), équipe 3 THERAVIR, Paris, France

2- AP-HP, Centre National de Référence Herpèsvirus (laboratoire associé), groupe hospitalo-universitaire (GHU) AP-HP. Sorbonne Université, Hôpital Pitié Salpêtrière, Service de Virologie, Paris, France

INTRODUCTION - OBJECTIF

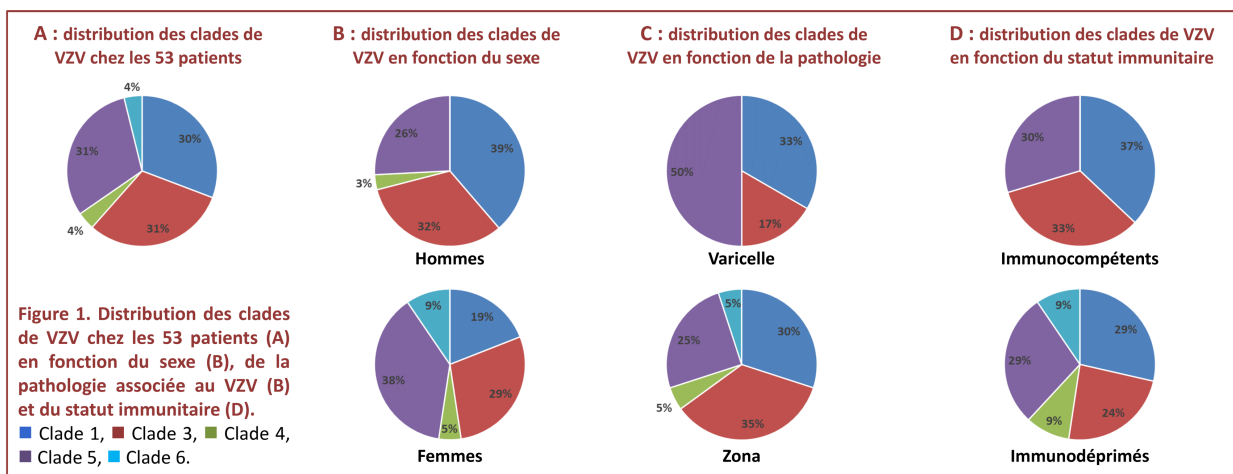
La classification des souches de VZV comprend 7 clades majeurs (1 à 6 et 9) et 2 clades provisoires (VII et VII). Il existe une répartition géographique des clades majeurs : les clades 1, 3 et 6 sont prédominants en Europe, Amérique du Nord et Océanie, le clade 2 au Japon et en Asie du Sud-Est, les clades 4 et 5 en Afrique et en Asie. Certains facteurs pourraient modifier cette répartition, comme l'intensification des voyages et des flux migratoires, la généralisation de la vaccination anti-varicelle, ou encore l'existence de phénomènes de recombinaison génétique virale. La surveillance de l'épidémiologie moléculaire des souches de VZV est donc nécessaire. Le génotypage des souches de VZV s'effectue classiquement par l'identification d'un panel de *single nucleotide polymorphisms* (SNP) dans différents cadres ouverts de lecture (*open reading frame* [ORF]) le long du génome viral. L'objectif de ce travail était d'effectuer la caractérisation moléculaire de souches de VZV isolées chez des patients de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière.

PATIENTS ET METHODES

Cinquante-deux patients ayant présenté une varicelle (12 ; 23,1%) ou un zona (40 ; 76,9%) au cours de l'année 2018 ont été inclus : 31 hommes, 21 femmes, âge médian 49 ans [1-87]. Ils étaient majoritairement originaires d'Europe (30 ; 57,7 %) et d'Afrique (16 ; 30,7%), et 21 (40,4%) étaient immunodéprimés. Les prélèvements biologiques analysés consistaient en 48 écouvillons cutanéomuqueux, 2 prélèvements de sang total et 2 liquides cérébrospinaux (LCS). Dans un premier temps, l'identification du caractère sauvage ou vaccinal des souches de VZV a été réalisée par une technique spécifique de PCR en temps réel de différenciation ciblant l'ORF62. Le génotypage des souches de VZV a ensuite été effectué par l'identification de 9 SNP distincts localisés dans 3 ORF différentes du génome viral : ORF1 (nucléotides 508, 685 et 790), ORF22 (nucléotides 37902, 38019, 38055, 38081 et 38177) et ORF50 (nucléotide 87841) [1,2]. La répartition des différents clades de VZV a été analysée en fonction des critères épidémiologiques et cliniques des patients suivants : âge, sexe, maladie due au VZV (varicelle ou zona), statut immunitaire.

RESULTATS

Aucune souche de VZV détectée chez les 52 patients n'était d'origine vaccinale : il s'agissait exclusivement de souches sauvages. Le génotypage de ces souches de VZV a permis d'identifier les clades 1, 3, 4, 5 et 6 dans les proportions indiquées dans la Figure 1A. Cette répartition des clades de VZV n'était pas statistiquement différente selon le sexe des patients (Figure 1B), la pathologie liée au VZV (Figure 1C) ou le statut immunitaire (Figure 1D). En revanche, les patients avec une varicelle due au clade 5 de VZV étaient significativement plus jeunes que ceux avec une varicelle due aux clades 1 et 3 de VZV : 15 ans *versus* 43 ans ; $p=0,004$.



CONCLUSION

Cette étude concernant l'épidémiologie moléculaire du VZV montre que non seulement les clades 1 et 3 européens, mais aussi le clade 5 africain, sont détectés en proportions équivalentes chez les patients de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière. De plus, les patients avec une varicelle due au clade 5 sont plus jeunes que les patients avec une varicelle due aux clades 1 et 3, ce qui semble indiquer que le clade 5 africain de VZV se transmet plus efficacement au sein de la population et infecte les individus plus tôt au cours de l'enfance. Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment publiés par une équipe allemande [3].

REFERENCES

- Zell R, Taudien S, Pfaff F, Wutzler P, Platzer M, Sauerbrei A. Sequencing of 21 varicella-zoster virus genomes reveals two novel genotypes and evidence of recombination. J Virol 2012 ; 86 : 1608-1622.
- Quinlivan ML, Jensen NJ, Radford KW, Schmid DS. Novel genetic variation identified at fixed loci in ORF62 of the Oka varicella vaccine and in a case of vaccine-associated herpes zoster. J Clin Microbiol 2012 ; 50 : 1533-1538.
- Sauerbrei A, Stefanski J, Philipps A, Krumboltz A, Zell R, Wutzler P. Monitoring prevalence of varicella-zoster virus clades in Germany. Med Microbiol Immunol 2011 ; 200 : 99-107.

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

3.3.1 Surveillance de la résistance du CMV aux antiviraux

(Laboratoire CNR Limoges)

Définition de l'échantillon de souches testées et définitions utilisées pour exprimer la résistance

Les échantillons et les souches virales sont adressés au CNR soit directement, après accord téléphonique sur demande du clinicien ou du virologue, soit dans le cadre des cohortes, ou à la demande de l'ANSM, pour vérification du génotype de résistance avant délivrance de l'ATU pour Cytotect CP®, letermovir ou maribavir. **En 2019 et 2020 aucune cohorte n'étant active les recherches de résistance relèvent des demandes spontanées ou de l'ANSM.**

Critères de recherche de résistance aux antiviraux : Persistance d'une charge virale sanguine détectable après plus de trois semaines de traitement bien conduit et/ou aggravation clinique et/ou augmentation rapide de charge virale et/ou baisse de charge virale inférieure à 0,5 logs par semaine.

A noter les critères adoptés par le groupe résistance lors de la conférence de consensus internationale de 2017 (Kotton et al., Transplantation 2018) ajoutent la notion d'exposition dans les critères pour la recherche de résistance au ganciclovir : « **Plus de six semaines d'exposition au ganciclovir et échec thérapeutique après plus de deux semaines de traitement à dose curative** ». Ceci permet, en cas d'exposition préalable par prophylaxie, de réaliser la recherche de résistance une semaine plus tôt. Ces critères s'ajoutent à nos critères CNR.

Définition de la résistance génotypique : Présence d'une mutation dont le rôle dans la résistance a été démontré soit par transfert de marqueur soit par production d'un virus recombinant portant la mutation. Les mutations sont classées selon l'augmentation de la Concentration Inhibitrice 50% (CI50) par rapport à la souche de référence testée par l'antivirogramme selon les techniques de référence du CNR (inhibition de la formation de foyers ou inhibition de la production d'ADN viral (cf rapport 2010) ou de la publication.

La liste des mutations avec leur impact sur la CI50 des souches a été revue dans le groupe résistance de la Conférence de consensus en 2017. Nous avons adapté à partir de la publication et de nos données une carte de ces mutations qui sera disponible sur le site du CNR en attendant la finalisation de la base de données interactive.

Définition de la résistance phénotypique et poids des mutations : Les mutations de résistance au ganciclovir dans *UL97* sont classées en bas niveau de résistance et haut niveau de résistance selon l'augmentation de CI50 (<3 bas niveau, possibilité d'augmenter la dose de ganciclovir après dosage plasmatique ; >3 haut niveau de résistance changement de molécule antivirale conseillée.

Résistances par année et par pathologie au niveau national

Le nombre de demandes a augmenté régulièrement jusqu'en 2017. Il reste à peu près constant depuis 2018, autour de 300 à 350 recherches de résistance par an, témoignant d'une persistance des cas de non réponse au traitement. Le réseau couvre la totalité des CHU français et deux centres en Suisse Lausanne et Genève. Le nombre total de génotypes effectués est de 2 287 à Limoges depuis 2006 et de 367 à La Pitié depuis 2017.

Nous constatons un meilleur signalement des mutations nouvelles qui, selon leur position et leur impact potentiel sur la résistance, sont explorées par le CNR par phénotypage de virus CMV Bacmide recombinant.

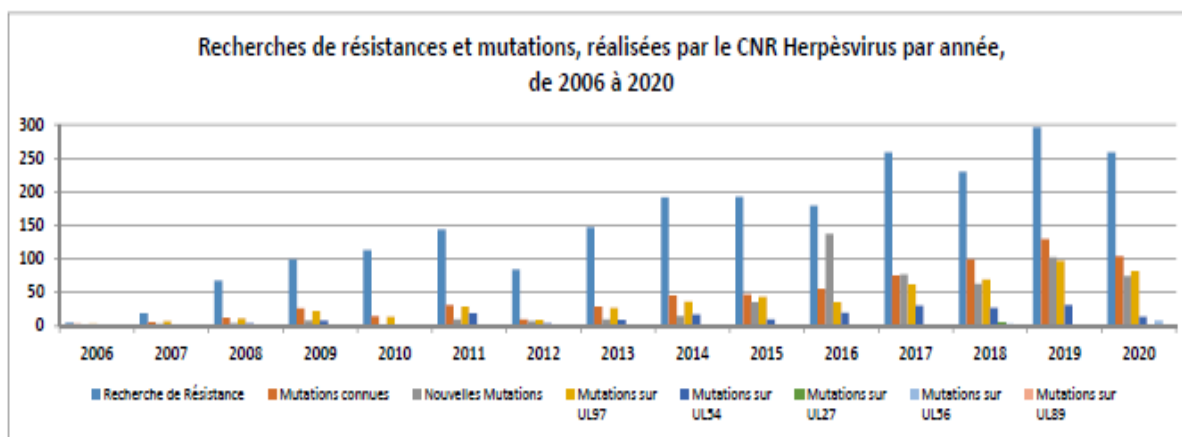
En 2019 au niveau national nous avons colligé à ce jour 419 génotypes de résistance pour 359 patients et 104 patients ont eu un test quantiféron™ CMV.

En 2020 au niveau national nous avons colligé à ce jour 412 génotypes de résistance pour 358 patients et 99 patients ont eu un test quantiféron™ CMV.

Outre les cas génotypés au CNR, deux laboratoires effectuant les génotypes, Saint Louis (anciennement laboratoire associé au CNR) et Nantes nous ont adressé leurs données. **Le recueil est donc ici exhaustif pour 2020. Il manque les patients de Nantes pour 2019 (28 en 2020).**

Le nombre de recherches de résistance n'a pas ou peu été impacté par la pandémie Covid 19 et les activités de surveillance du CNR ont donc été maintenues malgré le surcroît de travail lié à la pandémie.

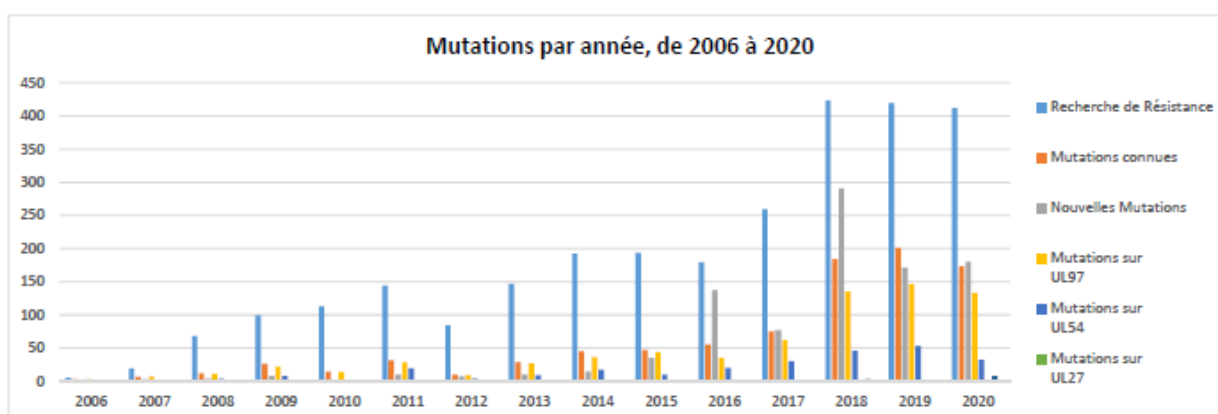
La prévalence nationale de la résistance virologique chez les patients non répondeurs (aussi appelés réfractaires) au traitement pour lesquels un génotype de résistance est demandé est de 25% en 2019 (données de Nantes manquantes) soit un quart des patients. Concernant les demandes de résistance 33% aboutissent en 2019 à un diagnostic de résistance, soit un tiers des demandes. **En 2020, 29,9% des patients réfractaires sont trouvés résistants soit un tiers des patients.** Et 34,2% des recherches de résistance aboutissent à un diagnostic de résistance. Ce qui est très stable témoignant probablement du respect des indications du génotype de résistance.



L'observation de la répartition des mutations (ci-dessous l'évolution par année) montre que les mutations de UL97 restent très largement majoritaires comme attendu du fait de la large utilisation du ganciclovir : 76,8% des positifs en 2020 et 72,6 en 2019. Les mutations sur UL54, responsables de multirésistance, sont fréquentes aux alentours de 20% des positifs : 26,3 en 2019 avec une légère baisse 18,5% en 2020.

Les résistances au letermovir, par mutation du gène *UL56* apparaissent dès 2018 et augmentent progressivement, pour représenter 5,6% de l'ensemble des résistances en 2020 mais à ce jour aucune mutation de résistance dans UL89 n'a été observée en pratique clinique.

Une surveillance a donc été mise en place en greffe de cellules souches en 2020 en partenariat avec la SFGMTC (cohorte Navire, coordonnée par le CNR Limoges).



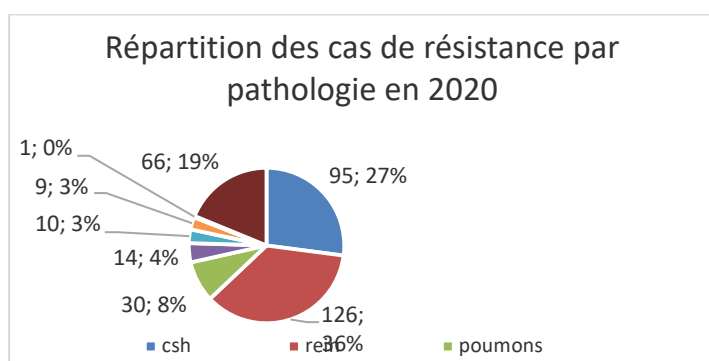
Mutations par année, de 2006 à 2020								
	Recherche de Résistance	Mutations connues	Nouvelles Mutations	Mutations sur UL97	Mutations sur UL54	Mutations sur UL27	Mutations sur UL56	Mutations sur UL89
2006	5	3	1	3	0	0	0	0
2007	19	6	3	7	0	0	0	0
2008	68	12	4	11	4	0	0	0
2009	99	26	8	22	8	0	0	0
2010	113	15	2	14	1	0	0	0
2011	144	31	10	29	19	0	0	0
2012	84	10	7	9	4	0	0	0
2013	147	29	10	27	9	0	0	0
2014	192	45	15	36	17	0	0	0
2015	193	47	35	44	10	0	0	0
2016	179	55	137	35	20	0	0	0
2017	259	75	77	62	30	0	0	0
2018	423	184	290	135	46	0	3	0
2019	419	201	171	146	53	0	2	0
2020	412	173	180	133	32	0	8	0

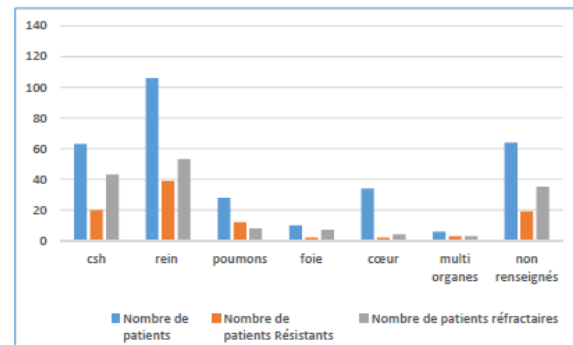
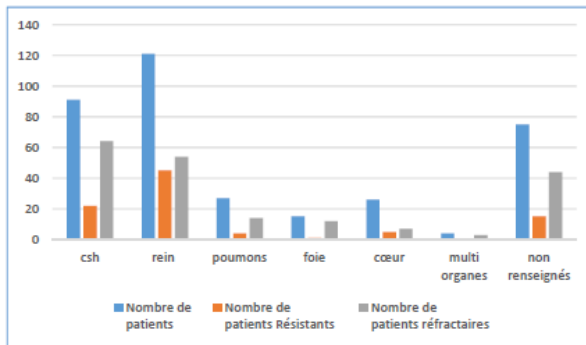
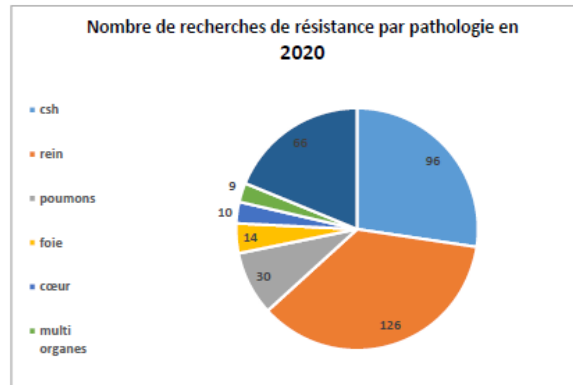
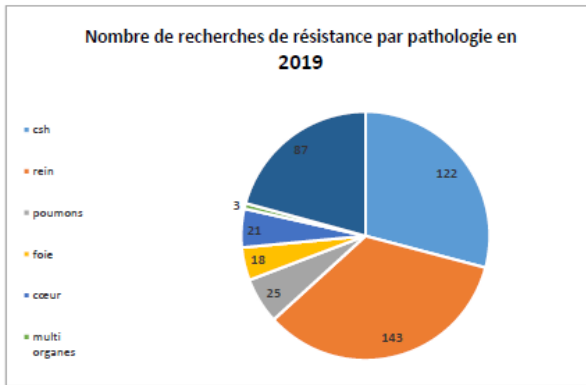
2019	Nombre de patients	Nombre de recherche de résistance CMV	Nombre de patients Résistants	Nombre de Résistances	Mutations sur UL97	Nouvelles mutations sur UL97	Mutations sur UL54	Nouvelles mutations sur UL54	Mutations sur UL27	Nouvelles mutations sur UL27	Mutations sur UL56	Nouvelles mutations sur UL56	nombre de quantiférons
LIMOGES	274	296	63	98	97	24	31	44	0	0	2	1	104
LAPITIE	85	123	29	42	49	26	22	43	0	0	0	0	0
SAINT LOUIS	24	29	6	9	7	41	6	60	0	0	0	0	0
Total	359	419	92	140	146	50	53	87	0	0	2	1	104

(En 2019 pas de données pour Nantes)

2020	Nombre de patients	Nombre de recherche de résistance CMV	Nombre de patients Résistants	Nombre de Résistances	Mutations sur UL97	Nouvelles mutations sur UL97	Mutations sur UL54	Nouvelles mutations sur UL54	Mutations sur UL27	Nouvelles mutations sur UL27	Mutations sur UL56	Nouvelles mutations sur UL56	Mutations sur UL89	Nouvelles mutations sur UL89
LIMOGES	236	259	68	93	82	4	14	39	0	0	8	27	0	4
LA PITIE	75	92	29	36	39	14	14	28	0	0	0	0	0	0
SAINT LOUIS	19	23	5	5	5	20	2	44	0	0	0	0	0	0
NANTES	28	38	5	7	7	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Total	358	412	107	141	133	38	32	111	0	0	8	27	0	4

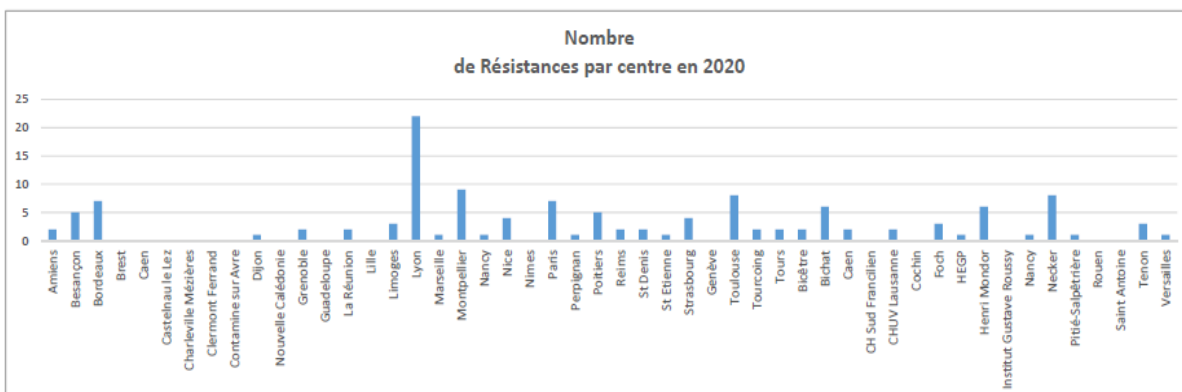
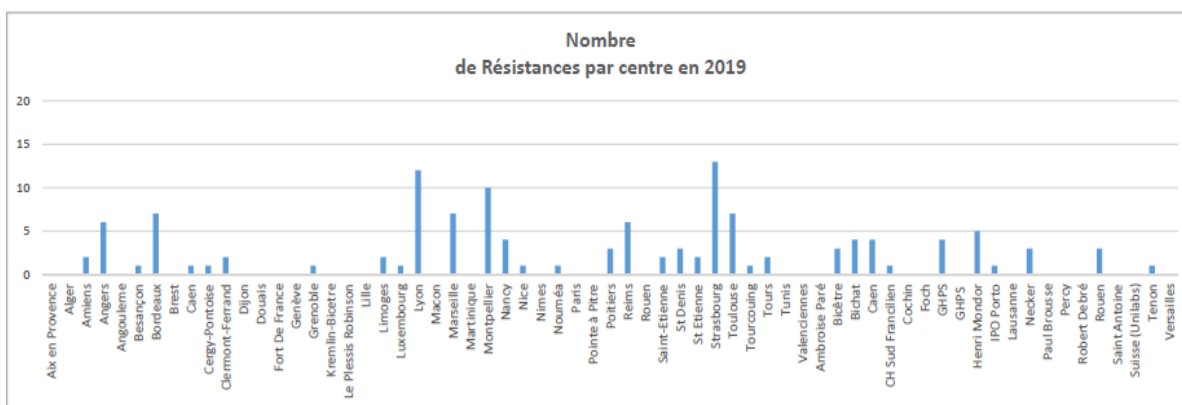
Nombre de cas de résistance par pathologie :





Nombre de résistances par centre :

Cette répartition est stable entre 2019 et 2020. On voit donc que la diminution des greffes, conséquence de la pandémie à SARS-CoV2 n'a pas modifié les chiffres de résistance de manière évidente. Deux hypothèses : 1) les patients résistants sont des patients greffés avant 2020 et les résistances surviennent plus tardivement dans l'histoire de la greffe et 2) les patients confinés ont vu leur accès aux soins diminués et ont pu développer des infections à forte charge virale. Ces hypothèses doivent être vérifiées. Nous pouvons remarquer que d'autres pathologies justifiant des traitements immunosuppresseurs prolongés comme la rectocolite hémorragique peuvent être associées à des résistances, ce qui justifie une surveillance de ces patients sous biothérapies ou immunosuppresseurs de longue durée.



Surveillance des résistances aux antiviraux en ATU

Maribavir et Letermovir ont été mis à disposition des cliniciens en ATU. Le laboratoire CNR de Limoges a participé à l'obtention de l'ATU en relayant et documentant les cas auprès de l'ANSM. Le laboratoire est également centre de référence pour la surveillance des ATU accordées pour les anti-CMV et expertise les demandes pour l'ANSM. Ainsi que les échappements virologiques aux antiviraux en ATU. Toute suspicion de résistance doit être documenté par un prélèvement adressé au CNR de Limoges afin de réaliser un génotype de résistance et de faire un bilan global des cas d'échappement. Nous avons ainsi surveillé l'ATU du Maribavir disponible en 2017 et celle du letermovir, disponible en prophylaxie dès décembre 2017. Les résultats corrigés 2019-2020 montrent une émergence de résistance au letermovir avec 8 cas en 2020 ce qui représente 5,6% des résistances identifiées et 7,47 % des patients résistants.

- Nous avons également analysé en 2019 le taux de résistances au letermovir en prophylaxie secondaire chez 80 patients, dont 4 (5,5%) ont échappé au traitement avec une répllication virale CMV persistante sous letermovir. Parmi ceux-ci 3 étaient porteurs d'une résistance au letermovir (**prévalence des résistances 3,75%**) (Robin et al., BBMT 2020). L'analyse de l'ATU en prophylaxie primaire est en cours.

- A ce jour nous recueillons les données de l'ATU du Maribavir qui seront disponibles en 2022. Les résultats cumulés depuis la mise à disposition du maribavir dans les ATU successives sont présentés au chapitre 4 « études contribuant à la surveillance ».

- Nous avons également surveillé l'efficacité des immunoglobulines hyperimmunes (Cytotect CP®) en traitement adjuvant chez les patients réfractaires. L'analyse des résultats chez les receveurs de rein est en cours.

3.3.2 Surveillance de la résistance des HSV-1 et HSV-2 aux antiviraux

(Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière)

En 2019-2020, les centres de la Pitié-Salpêtrière, Saint-Louis et Limoges ont reçu un total de 322 prélèvements biologiques provenant de 245 patients distincts pour effectuer une recherche de résistance des HSV aux antiviraux (les données pour le centre de Lyon n'étaient pas disponibles). Les caractéristiques étaient les suivantes :

	2019	2020
Effectifs		
Nombre de patients	124	121
Nombre de prélèvements biologiques ¹	161	161
Sexe		
Homme	60	59
Femme	64	62
Age		
Médiane (années) [intervalle]	56 [2 – 97]	54 [0 – 90]
Origine géographique		
Paris / Ile-de-France	54	58
Province	63	57
Outre-mer	5	2
Europe	2	4
Immunodépression		
Aucune	40	23
Greffe de CSH	24	34
Greffe d'organe solide	3	2
Greffe de cornée	3	1
Infection par le HIV	20	16
Hémopathie	4	6
Pathologie auto-immune	8	4
Cancer solide	3	3
Déficit immunitaire primitif	1	2
Autre	3	2
Non renseigné	15	28
Prélèvements biologiques		
Prélèvement cutanéomuqueux ²	100	104
Prélèvement oculaire ³	37	27
Sang	14	11
Biopsie	0	4
LCS	6	6
Prélèvement respiratoire	3	9
Souche virale	1	0
Traitements antiviraux		
(V)ACV	111	113
FCV	2	1
FOS	0	5
(V)ACV + FCV	1	0
(V)ACV + FOS	18	19
(V)ACV + GCV	4	1
(V)ACV + TFT	1	0
(V)ACV + FOS + CDV	4	0
FCV + GCV	0	1
Imiquimod	0	1
Aucun	8	0
Non renseigné	12	19

¹Pour certains patients, des prélèvements itératifs et/ou effectués dans différents sites anatomiques ont été analysés ; ²Hors prélèvement de cornée ; ³Prélèvement de cornée, larmes, humeur oculaire.

CSH : cellules souches hématopoïétiques ; CDV : cidofovir ; FCV : famciclovir ; FOS : foscarnet ; GCV : ganciclovir ; HIV : virus de l'immunodéficience humaine ; LCS : liquide cébrospinal ; TFT : trifluridine ; (V)ACV : (val)aciclovir.

Le bilan des recherches de résistance des HSV aux antiviraux est le suivant :

Résultat	2019	2020
Nombre total de patients	124	121
Patients sans recherche de résistance ¹	28	27
Patients avec recherche de résistance	96	94
Sensibilité aux antiviraux	66 (68,8%)	45 (47,9%)
Résistance aux antiviraux	30 (31,2%)	49 (52,1%)
Résistance à l'ACV	28 (29,2%)	46 (93,9%)
Résistance au FOS	0 (0,0%)	1 (2,0%)
Résistance à l'ACV et au FOS	2 (2,0%)	2 (4,1%)

¹Patients pour lesquels la demande de recherche de résistance des HSV aux antiviraux était soit non justifiée, soit non réalisable du fait de la trop faible charge virale HSV dans le prélèvement biologique reçu au laboratoire ne permettant pas d'amplifier les gènes d'intérêt.

Une résistance des HSV aux antiviraux a été identifiée chez 31,2% et 52,1% des patients testés en 2019 et 2020, respectivement. Les mutations de résistance identifiées étaient les suivantes :

Mutation résistance	2019	2020
Résistance à l'ACV	n=32	n=53
Changement d'acide aminé dans la TK	10	20
Codon stop dans la TK	15	23
Changement d'acide aminé + codon stop dans la TK	1	0
<i>Frameshift</i> (décalage du cadre de lecture) dans la TK	3	6
Changement d'acide aminé dans l'ADN polymérase	2	2
Changements d'acide aminé dans la TK et l'ADN polymérase	1	0
Résistance au FOS	n=0	n=1
Changement d'acide aminé dans l'ADN polymérase	0	1
Résistance à l'ACV et au FOS	n=2	n=xx
Changement d'acide aminé dans l'ADN polymérase	1	1
Changement d'acide aminé dans la TK et dans l'ADN polymérase	1	0

Au total, 37 nouvelles mutations dans la TK et 60 nouvelles mutations dans l'ADN polymérase des HSV ont été identifiées au cours de la période 2019-2020 : leur rôle exact dans la résistance des HSV aux antiviraux reste à étudier.

3.3.3 Surveillance de la résistance du VZV aux antiviraux

En 2019-2020, les centres de la Pitié-Salpêtrière et de Limoges ont reçu un total de 66 prélèvements provenant de 34 patients distincts pour effectuer une recherche de résistance du VZV aux antiviraux. Les caractéristiques étaient les suivantes :

	2019	2020
Effectifs		
Nombre de patients	22	12
Nombre de prélèvements biologiques ¹	36	30
Sexe		
Homme	9	10
Femme	13	2
Age		
Médiane (années) [intervalle]	53 [1 – 86]	71 [2 – 96]
Origine géographique		
Paris / Ile-de-France	12	4
Province	10	8
Immunodépression		
Aucune	9	3
Greffe de CSH	2	2
Greffe d'organe solide	3	0
Infection par le HIV	2	2
Hémopathie	3	1
Déficit immunitaire primitif	1	0
Non renseigné	2	4
Prélèvements biologiques		
Prélèvement cutanéomuqueux ²	15	3
Prélèvement oculaire ³	18	15
Sang	3	10
Biopsie	0	1
Prélèvement respiratoire	0	1
Traitements antiviraux		
(V)ACV	26	12
(V)ACV + FCV	1	2
(V)ACV + FOS	5	11
(V)ACV + FOS + FCV	1	0
(V)ACV + GCV	2	0
(V)ACV + FOS + GCV	0	3
Non renseigné	1	2

¹Pour certains patients, des prélèvements itératifs et/ou effectués dans différents sites anatomiques ont été analysés ; ²Hors prélèvement de cornée ; ³Prélèvement de cornée, larmes, humeur oculaire.

CSH : cellules souches hématopoïétiques ; FCV : fampiclovir ; FOS : foscarnet ; GCV : ganciclovir ; HIV : virus de l'immunodéficience humaine ; LCS : liquide cébrospinal ; (V)ACV : (val)aciclovir.

Le bilan des recherches de résistance du VZV aux antiviraux est le suivant :

Résultat	2019	2020
Nombre total de patients	22	12
Patients sans recherche de résistance ¹	7	9
Patients avec recherche de résistance	15	3
Sensibilité aux antiviraux	14 (93,3 %)	2 (66,7 %)
Résistance aux antiviraux	1 (6,6 %)	1 (33,3 %)
Résistance à l'ACV	1 (6,6 %)	1 (33,3 %)

¹Patients pour lesquels la demande de recherche de résistance du VZV aux antiviraux était soit non justifiée, soit non réalisable du fait de la trop faible charge virale VZV dans le prélèvement biologique reçu au laboratoire ne permettant pas d'amplifier les gènes d'intérêt.

Une résistance des VZV aux antiviraux a été identifiée chez 6,6 % et 33,3 % des patients testés en 2019 et 2020, respectivement. Les mutations de résistance identifiées étaient les suivantes :

Type de résistance	2019	2020
Résistance à l'ACV	n=1	n=1
Codon stop dans la TK	1	1

Au total, 1 nouvelle mutation dans la TK (I245V) et 3 nouvelles mutations dans l'ADN polymérase (K869N, N1065T, L1095M) du VZV ont été identifiées au cours de la période 2019-2020 : leur rôle exact dans la résistance du VZV aux antiviraux reste à étudier.

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

- **Via les bases de données :** la base de données CMV congénital existe depuis avril 2017 et le nombre de déclarations en ligne augmente régulièrement. Elle est compatible avec les autres bases de données de l'ECCL.
- **Via le site internet :**
 - Le contenu du site internet est en cours d'actualisation. Bien que celle-ci ait pris du retard du fait de l'épidémie de Covid 19, les parties HSV et VZV sont en cours de remplissage.
 - Les informations les plus récentes et les recommandations et algorithmes du CNR ont été implémentés sur le site internet dans les rubriques correspondantes.
 - Les chiffres de surveillance sont rendus publics dans les rubriques correspondantes, et sont régulièrement téléchargés soit à visée de formation soit à visée de documentation.
 - Une rubrique d'expertise des techniques est disponible.
 - Une version anglaise du site existe et est en cours d'actualisation.
 - La base de données interactive pour l'interprétation des résistances du CMV aux antiviraux a été développée par le laboratoire coordonnateur sur le nouveau site internet du CNR CMV elle est terminée et sera accessible fin août à tous les laboratoires consultant le site. Elle permet également un enregistrement des mutations pour lesquelles des recherches sont effectuées et donc un dépistage avancé des nouvelles mutations.

Collaboration avec les instances publiques Nationales et internationales :

- Le Dr M Leruez-Ville Participe au **groupe Européen ECCL** (European congenital Cytomegalovirus Initiative pour la mise en

place de collaborations européennes et de recommandations.

- Le Pr S Alain collabore :
 - avec l'**ANSM** pour la surveillance des ATU pour les nouveaux anti-CMV en collaboration avec l'ANSM (avis expert sur le protocole et le choix des solutions antivirales en ATU) Recherche de résistance en cas d'échappement. Avis sur l'élaboration des protocoles de PUT pour cytotect CP et Maribavir.
 - Avec la **HAS** : Participation à l'élaboration des recommandations HAS (2019) sur l'utilisation du Foscarnet,
 - Avec la **CNAM** dans le cadre de la commission scientifique en charge des propositions de modification de la nomenclature des actes médicaux. A la suite de ses travaux, la PCR HSV, VZV et CMV ont notamment été acceptées en avril 2018, puis la PCR EBV et HHV6 (avec l'aide du laboratoire Référent EBV) en 2019 et sont désormais à la nomenclature avec des recommandations précises.
 - avec le **HCSP** en tant que membre de la commission mise en place pour répondre à la saisine du HCSP sur le dépistage de l'infection congénitale à CMV. Et pour la mise en œuvre des avis du HCSP délivrés en décembre 2018. Et à la publication de la méthodologie.
- Le Dr Sébastien Hantz a participé en 2019 en tant qu'expert virologue à la commission de la **HAS** chargée d'évaluer la demande d'AMM du letermovir.
- Le Pr Sophie Alain est expert auprès du **QCMD** (European Quality Control in Molecular Diagnosis) pour la conception et l'analyse des contrôles européens de qualité pour la détection/quantification du CMV dans le sang total et le plasma et de génotype de résistance CMV
- Le Dr David Boutolleau est expert auprès du **QCMD** pour la conception et l'analyse des résultats des contrôles de qualité pour la détection/quantification des génomes des HSV et du VZV et pour le génotype de résistance des HSV aux antiviraux.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

3.5.1 Analyse du rôle des nouvelles mutations par analyse du phénotype de résistance de Bacmides CMV recombinants

(Laboratoire CNR Limoges)

Les mutations nouvelles identifiées au laboratoire CNR ou déclarées par les autres laboratoires déclarants chez les patients réfractaires au traitement antiviral sont analysées par phénotypage sur virus recombinants en utilisant la technologie des Bacmides CMV :

- En 2019, 20 constructions de virus recombinant pour évaluation de l'impact d'une nouvelle mutation : 4 mutations dans UL97, 14 mutations dans UL54 et 2 mutations dans UL56
- En 2020 : 5 constructions de virus recombinants 1 dans UL56, 1 dans UL97 et 3 dans UL54
- Au total une nouvelle mutation de résistance au maribavir UL97 C480F a été décrite et publiée en 2020 (**Santos et al., JID 2020**), une mutation nouvelle sur une position connue conférant une résistance au ganciclovir et au foscarnet UL54 A786P a été identifiée (article en préparation) ainsi qu'une mutation nouvelle à partir d'une souche compartimentée dans le LCR d'un patient VIH V787E dans UL54, conférant une résistance au ganciclovir croisée avec une résistance modérée au cidofovir et au foscarnet publiée en 2019 (**Piret J et al JID 2019**).
- Les mutations ne conférant pas de résistance (polymorphismes) sont ajoutées dans la base de données des résistances du CNR.

3.5.2 Place du Quantiféron™ CMV dans l'évaluation immunologique des patients transplantés non répondeurs aux antiviraux

(Laboratoire CNR Limoges)

Quantiféron™ et résistance :

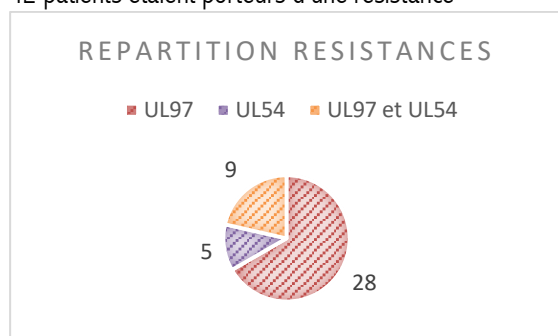
Le Test Quantiféron™ est de plus en plus utilisé pour le suivi des patients transplantés. Nous avons très tôt proposé ce tests pour évaluer la réponse immune chez les patients résistants afin de guider le traitement antiviral de deuxième ou troisième ligne. Le premier bilan réalisé sur 43 patients en 2018 avait suggéré une réponse différente entre les deux populations réfractaires et résistantes notamment chez les greffés rénaux . Nous avons poursuivi ce travail par la thèse d'exercice de Caroline Benet, interne en biologie et porté la population ayant eu un test quantiféron™ CMV dans le mois suivant ou précédant la recherche de résistance à 81 patients, 42 résistants et 39 réfractaires (non répondeurs , mais sans résistance génotypique détectée.

Le principe d'interprétation du test est rappelé ci-dessous :

Valeur Antigène (UI/mL)	Valeur Mitogène (UI/mL)	Résultat	Interprétation
< 0,2	≥ 0,5	Négatif	Absence de réponse immunitaire spécifique au CMV
≥ 0,2	Toutes	Positif	Réponse immunitaire spécifique au CMV détectée
< 0,2	<0,5	Mitogène non répondeur	Détection de réponse immunitaire impossible (cellulaire globale et spécifique)

Les résultats sont les suivants :

42 patients étaient porteurs d'une résistance

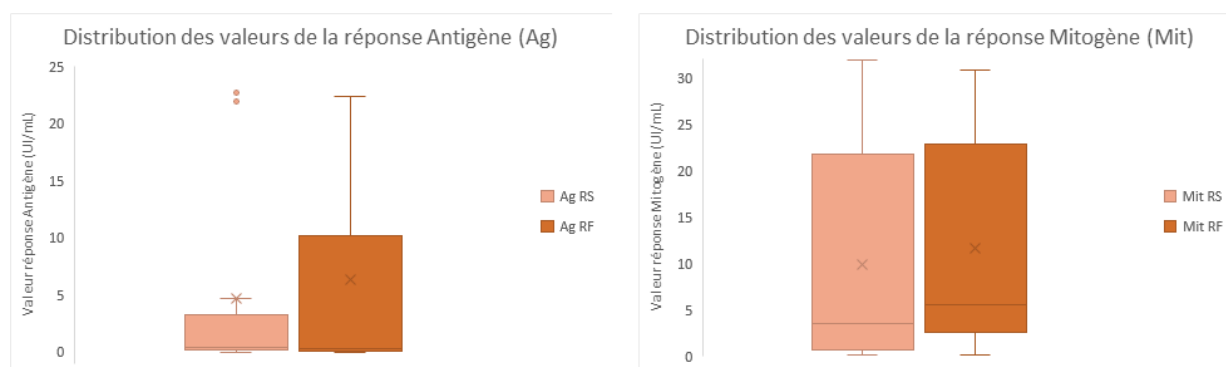


les deux groupes sont homogènes :

	Résistants (n=42)	Réfractaires (n=39)
Age (ans)	55,81 (9,32)	56,72 (13,25)
Homme	28 (66,67%)	27 (69,2%)
Statut CMV		
<i>D+/-</i>	14	15
<i>D+/+</i>	4	6
<i>D-/-</i>	2	2
<i>D+/?</i>	0	1
<i>D-/+</i>	0	1
<i>D ?/+</i>	0	1
<i>D-/?</i>	2	0
<i>Inconnu</i>	20	13
Type de greffe		
<i>Rein</i>	27 (64,3%)	18 (46,1%)
<i>Cœur</i>	3 (7,1%)	6 (15,4%)
<i>Poumon</i>	5 (11,9%)	1 (2,6%)
<i>Foie</i>	4 (9,5%)	6 (15,4%)
<i>CSH</i>	3 (7,1%)	8 (20,5%)
Moyenne virémie (UI/mL) *	3,92 (1,25) ⁽¹⁾	3,06 (1,45) ⁽²⁾
Délais Greffe/RR (jours)	202,1 (147,5) ⁽³⁾	242,8 (192) ⁽⁴⁾

Nous avons mis en évidence à un risque de 5% en unilatéral une charge virale moyenne chez les résistants supérieure à celle des réfractaires (p-value : 0,992). Les autres paramètres (Age, Valeur moyenne Antigène et valeur moyenne Mitogène) après tests de Student n'ont pas mis en évidence d'autres différences statistiques.

Au niveau de la réponse Mitogène on voit que les deux distributions des valeurs semblent homogènes, en effet 90% des valeurs se situent sensiblement entre les mêmes écarts. En revanche on observe une tendance lorsque l'on confronte les valeurs de la réponse Antigène, la distribution des valeurs du groupe Réfractaire (Rf) s'étend sur des valeurs plus élevées que celle du groupes Résistant (Rs).

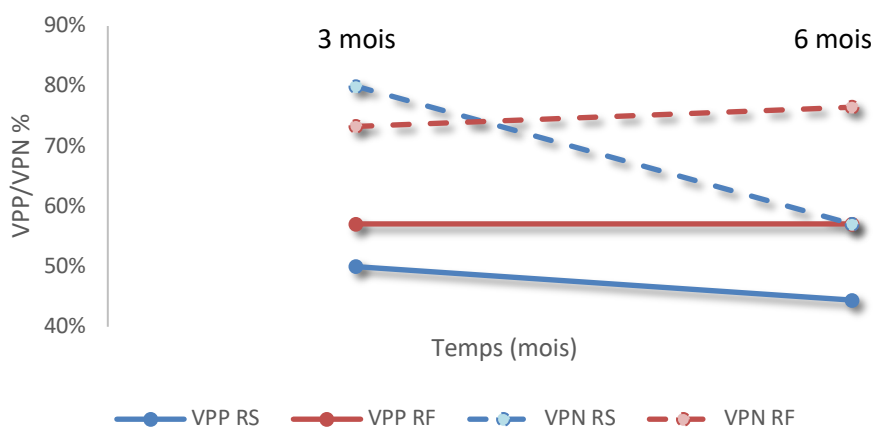


Un test d'homogénéité Khi 2 a révélé un Khi observé à 0,888 (Valeur théorique avec 4 ddl et risque 5% = 14,86), ce qui rend ces deux populations homogènes dans les proportions des résultats des QuantiFERON™, donc comparables.

Enfin, les évolutions à trois et six mois favorables (absence de répllication ou baisse de la charge virale de 2 log) ou défavorables (augmentation ou persistance de charge virale) n'ont pas différé entre les groupes.

Lorsque la population est restreinte aux greffés rénaux pour plus d'homogénéité, le groupe des patients résistants est statistiquement plus jeune que les patients réfractaires (- 7,241 ans) ; On remarque que la proportion de patients séropositifs semble plus élevée chez les patients réfractaires (27,3%) que les résistants (14,2%). La tendance qui décrivait une non-réponse au traitement antiviral plus précoce chez le groupe des résistants se retrouve encore plus dans le groupe des greffés rénaux (221 jours versus 288 jours). Le test de Student ne trouve cependant pas de différence significative (p value : 0,849). L'appréciation semi-quantitative observée en globalité s'accroît chez les greffés rénaux (distribution de la réponse Antigène étendue sur des valeurs plus élevée chez les Réfractaires, malgré une distribution des valeurs de la réponse Mitogène relativement homogène).

Comparaison VPP/VPN Résistants versus Réfractaires



La valeur prédictive négative d'évolution favorable est la plus élevée. Lorsqu'un test QuantiFERON™ est négatif (absence d'immunité spécifique), il y a donc de fortes chances qu'une répllication virale persiste à 3 et 6 mois.

(Ce travail est en cours de préparation pour publication)

En tant que CNR nous recommandons donc un test Quantiféron™ CMV associé à la recherche de résistance pour mieux prédire et accompagner la modulation du traitement immunosuppresseur en parallèle du traitement antiviral d'une infection réfractaire.

3.5.3 Bilan de l'utilisation du letermovir et du maribavir en ATU et recommandations

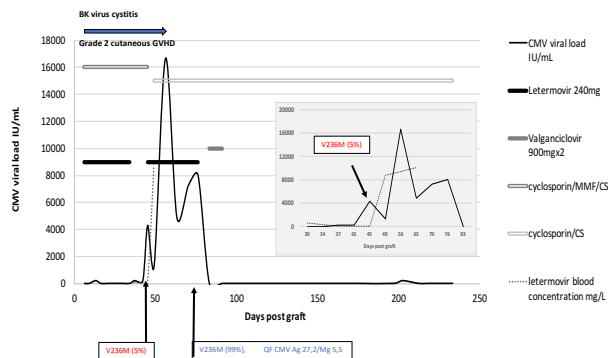
Laboratoire CNR Limoges

Letermovir :

Le letermovir a bénéficié d'une ATU en France en prophylaxie primaire et secondaire de 2017 à 2019 pour la prévention des infections à CMV chez les patients receveurs de cellules souches hématopoïétiques à haut risque d'infection à CMV (séropositifs avant greffe et /ou avec facteurs de risque de GVH ou forte immunosuppression). Le laboratoire CNR a répertorié les non réponses et les résistances, et participé au bilan des ATU Letermovir, en prophylaxie secondaire (Robin et al . 2019) et en prophylaxie primaire (Beauvais et al., soumis). Nous avons également analysé 5 cas de non réponse au letermovir en recherchant par NGS le moment d'émergence de la résistance et les mutations présentes dans les terminases UL56 et UL89 et démontré que le risque d'échappement était associé soit à l'interruption de traitement soit à un sous dosage de letermovir dans le sang (Alain et al., JAC 2020). Ces facteurs de risque sont important à connaître car les résistances au letermovir sont le plus souvent des résistances « absolues » supprimant toute efficacité de la molécule.

Le cas extrait de la publication et présenté ici illustre une interruption de traitement par oubli du patient suivie de l'émergence de résistance via une mutation de résistance de très haut niveau au letermovir. Le patient a été traité par valganciclovir et se porte bien. Ce cas illustre l'intérêt du letermovir qui ne présente pas de résistance croisée avec les inhibiteurs de polymérase du CMV

Patient 1 (Limoges)



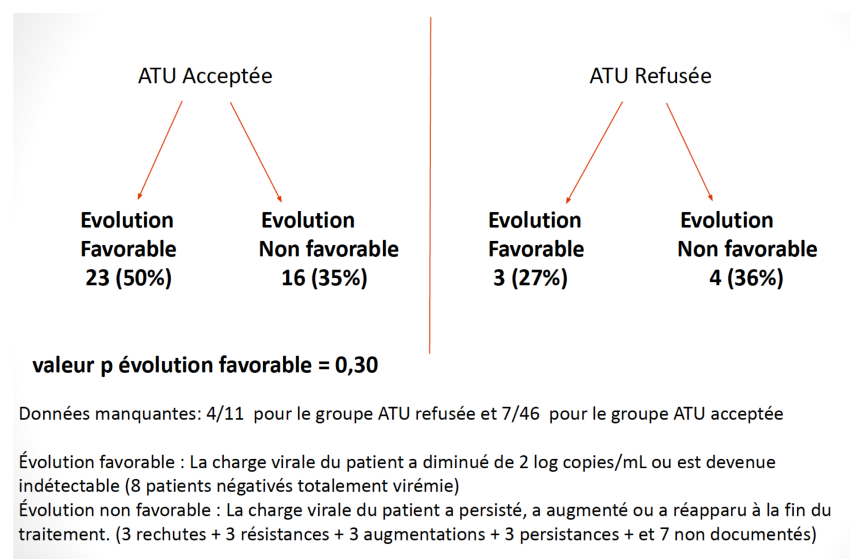
Un autre cas de résistance était lié à une malabsorption chez un patient très fortement immunosupprimé ; un troisième à une interruption de traitement pour mise sous foscarnet en raison d'une infection herpétique résistante aux antiviraux. En pratique nous avons vérifié par la suite l'absence d'interaction métabolique entre les deux molécules de cible différente. Le letermovir aurait donc pu être poursuivi prévenant ainsi la reprise de réplication du CMV.

Maribavir :

Le maribavir est un inhibiteur de la kinase UL97 du CMV, peu toxique et présentant d'exceptionnelles résistances croisées, uniquement avec le ganciclovir. Depuis 2014 le maribavir a été disponible en ATU d'abord sans recommandations de doses puis, après la parution de l'étude de phase II dosée ranging (Papanicolaou et al., 2017, CID) avec une dose recommandée de 400mgx2 per os. Le bilan de l'ensemble des ATU est en cours, ici figurent de premiers résultats cumulant la période 2012-2014 et 2017-2021. Il faut noter que depuis 2017 peu de demandes d'ATU sont acceptées (43 acceptées versus 114 refusées depuis 2017, 40 demandes, toutes acceptées, entre 2012 et 2014).

Résultats sur 57 demandes analysées (40+17)

Evolution des 57 demandes analysées



Ces résultats sont très préliminaires et seront complétés dans l'année en cours. Ils seront à comparer avec les résultats de l'étude de phase III randomisée chez les patients non répondeurs aux anti CMV (Solstice, ClinicalTrials.gov, NCT02931539) auquel le CNR a participé (Pr Alain PI France).

3.5.4 Cohortes de surveillance des non-réponses aux antiviraux

(Laboratoire CNR Limoges)

OrPhaViC :

La cohorte Orphavic est clôturée depuis fin 2018. (voir rapport 2018) Les analyses complémentaires (dosages et NGS) sont terminées et l'analyse est en cours pour déterminer :

- Le moment de la résistance en NGS
- Le rôle du sous dosage en ganciclovir. Et des modifications de traitement.

L'analyse multivariée des facteurs de risque est en cours.

NaViRe :

Dans la suite de l'AMM du letermovir en 2019 Une nouvelle cohorte a été mise en place pour surveiller l'efficacité des nouveaux antiviraux en vie réelle en particulier le letermovir, en parallèle des inhibiteurs de polymérase, situer l'apport des tests de charge virale Torquetenovirus de façon prospective. Et pour identifier les modalités d'utilisation des nouvelles molécules. Cette cohorte, en partenariat avec la SFGMTC est répertoriée dans Clinical trial (NCT04690933). Les premières inclusions ont eu lieu en juillet 2020.

3.5.5 Bilan des résistances du VZV aux antiviraux sur la période 2010-2018

(Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière)

Au cours de la période 2010-2018, le CNR Herpèsvirus – LA Pitié-Salpêtrière a analysé 137 prélèvements biologiques provenant de 91 patients différents pour recherche de résistance du VZV aux antiviraux. Les caractéristiques de ces patients étaient les suivantes :

	2010-2018
Effectifs	
Nombre de patients	91
Nombre de prélèvements biologiques ¹	137
Sexe	
Homme	53
Femme	38
Age	
Médiane (années) [intervalle]	55,5 [1 – 88]
Origine géographique	
Paris / Ile-de-France	51
Province	37
Europe	3
Immunodépression	
Aucune	18
Greffe de CSH	23
Greffe d'organe solide	3
Infection par le HIV	5
Hémopathie	13
Pathologie auto-immune	7
Cancer solide	2
Déficit immunitaire primitif	7
Non renseigné	6
Prélèvements biologiques	
Prélèvement cutanéomuqueux ²	73
Prélèvement oculaire ³	14
Sang	31
Biopsie	2
LCS	13
Prélèvement respiratoire	4

Traitements antiviraux	
(V)ACV	97
(V)ACV + FCV	3
(V)ACV + FOS	19
(V)ACV + GCV	1
(V)ACV + FOS + CDV	2
Non renseigné	15

¹Pour certains patients, des prélèvements itératifs et/ou effectués dans différents sites anatomiques ont été analysés ;

²Hors prélèvement de cornée ; ³Prélèvement de cornée, larmes, humeur oculaire.

CSH : cellules souches hématopoïétiques ; CDV : cidofovir ; FCV : famciclovir ; FOS : foscarnet ; GCV : ganciclovir ; HIV : virus de l'immunodéficience humaine ; LCS : liquide cébrospinal ; (V)ACV : (val)aciclovir.

Une résistance du VZV à l'aciclovir a été identifiée chez 10 patients, soit une prévalence de 11%.

Les mutations de résistance identifiées dans la TK du VZV étaient les suivantes :

Mutations dans la TK conférant une résistance à l'ACV	2010-2018
Codon stop	8
Changement d'acide aminé + codon stop	1
Délétion de 4 acides aminés	1

ACV : aciclovir.

La prévalence de la résistance du VZV aux antiviraux sur la période 2010-2018 est en accord avec celle retrouvée par van de Beek *et al* (*Clin Infect Dis*, 2013) chez des patients atteints d'hétopathies ou greffés de cellules souches hématopoïétiques : 7%. Ces résultats ont fait l'objet d'une communication orale au 29^e congrès de l'ECCMID :

Boutolleau D, Roger O, Piot JC, Thévenin M, Mousnier F, Hermet L, Burrel S. Emergence of varicella-zoster virus resistance to acyclovir among both immunocompromised and immunocompetent individuals. Amsterdam, Pays-Bas. 13 - 16 avril 2019.

3.5.5 Etude RetroAlpha 14-18

Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

En janvier 2019, le CNR Herpèsvirus – LA Pitié-Salpêtrière a lancé une étude nationale rétrospective multicentrique observationnelle des atteintes neuroméningées dues aux alphaherpèsvirus (HSV-1, HSV-2 et VZV) au cours de la période 2014-2018. Au total, 49 laboratoires de virologie/microbiologie (réseau nommé « HSV VZV French Study Group ») ont accepté de participer à cette étude qui comprend deux parties distinctes :

Partie 1 : Analyse de données épidémiologiques et clinico-biologiques

Chaque laboratoire participant a rempli un recueil de données, à partir des systèmes informatiques des laboratoires (SIL) et des dossiers cliniques numériques des patients, afin d'étudier les données suivantes :

- Activité globale de détection des alphaherpèsvirus (HSV-1, HSV-2 ou VZV) dans les prélèvements de LCS reçus au laboratoire chaque année au cours de la période d'étude
- Données démographiques minimales : sexe et âge
- Données cliniques et thérapeutiques : présence d'une immunodépression, diagnostic clinique retenu par le clinicien (méningite ou encéphalite), traitement antiviral éventuellement administré au patient (molécule antivirale, durée du traitement)
- Données biologiques : cellularité (nombre de leucocytes et d'hématies) et taux de protéines dans le LCS
- Données virologiques : virus détecté dans le LCS par PCR (HSV-1, HSV-2 ou VZV) et charge virale mesurée dans le LCS

L'ensemble de ces données permettra notamment de calculer la prévalence et de décrire les principales caractéristiques des infections neuroméningées dues aux alphaherpèsvirus sur le territoire national.

Etape 2 : Séquençage des génomes des alphaherpèsvirus

Les laboratoires qui conservent dans leurs bibliothèques des reliquats des échantillons de LCS prélevés dans le cadre du soin, pour effectuer le diagnostic étiologique de la méningite ou de l'encéphalite du patient, ont eu la possibilité de nous les envoyer. Les génomes des alphaherpèsvirus contenus dans ces échantillons sont analysés sur la plateforme de caractérisation des génomes microbiens par séquençage haut-débit de l'hôpital Henri Mondor (responsable : Dr Christophe Rodriguez) afin de déterminer leur séquence complète et d'identifier de potentiels facteurs de neurovirulence.

Les résultats de cette étude RetroAlpha 14-18 ont fait l'objet d'une présentation à la RICAI en décembre 2020, et ils seront présentés lors d'une communication orale au 31^e congrès de l'ECCMID : [Boutolleau D](#), Faury H, Payen M, [Burrel S](#), on behalf on the HSV VZV French Study Group. **Epidemiological characteristics and laboratory findings associated with alphaherpesvirus infections of the central nervous system in France from 2014 to 2018: results from the multicenter retrospective observational cohort study RetroAlpha 14-18.** Online meeting. 9 - 12 juillet 2021.

40^e

RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE

LUNDI 14 & MARDI 15
DÉCEMBRE 2020

RICAI DIGITALE

www.ricai.fr



P-132

PA-08 - Diagnostic virologique hors COVID-19

Etude nationale sur les infections neuroméningées par HSV et VZV

David Boutolleau, Hélène Faury, Mathilde Payen, Sonia Burrel, au nom du groupe d'étude français HSV VZV

AP-HP. Sorbonne Université, Centre National de Référence Herpèsvirus (laboratoire associé)

Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France

david.boutolleau@aphp.fr



INTRODUCTION - OBJECTIFS

Les virus herpès simplex 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2) et le virus de la varicelle et du zona (VZV) sont les deux agents infectieux le plus fréquemment identifiés dans le cas de méningoencéphalite en France [1]. L'objectif de ce travail était de décrire les principales caractéristiques épidémiologiques et clinico-biologiques de ces atteintes du système nerveux central (SNC) par les alphaherpèsvirus.

PATIENTS ET METHODES

Cette étude rétrospective nationale multicentrique a été menée entre 2014 et 2018 auprès de 48 laboratoires en métropole et dans les outre-mer. Un questionnaire a permis de recueillir l'activité des PCR HSV-1, HSV-2 et VZV réalisées sur liquide cébrospinal (LCS) et les techniques utilisées. Pour les patients avec un résultat de PCR positif pour un des 3 virus, les données démographiques, biologiques, cliniques et thérapeutiques ont été collectées.

RESULTATS

Activité globale des PCR HSV-1, HSV-2 et VZV sur LCS. Entre 2014 et 2018, un prélèvement de LCS a été analysé pour 181555 patients dans les 48 laboratoires participant, et un résultat positif a été obtenu pour 3842 (2,12%) d'entre eux : 1237 (0,68%) pour HSV-1, 819 (0,45%) pour HSV-2, et 1786 (1,12%) pour VZV. Les plateformes les plus utilisées pour le diagnostic virologique sont l'easyMAG[®]/EMAG[®] (BIOMERIEUX) pour l'extraction des acides nucléiques (46% des laboratoires) et les LightCycler[®] (Roche Diagnostics) pour l'amplification génique (29% des laboratoires). Les trousseaux de PCR R-GENE[®] (BIOMERIEUX) sont utilisés par 50% des laboratoires. Un automate à réponse rapide de type LIAISON[®] MDX (DiaSorin Molecular) ou FilmArray[®] (BIOMERIEUX) est utilisé par 29% des laboratoires.

Analyse des dossiers médicaux. Les dossiers médicaux de 3136 patients adolescents et adultes avec un résultat de PCR positif ont été analysés : âge médian de 57 ans (écart interquartile : 35,9-73,2), 1573 femmes (50,3%), 1552 hommes (49,7%). Les fréquences de détection des virus ont été analysées selon plusieurs facteurs (Figure 1). Chez les femmes, la fréquence de détection du HSV-2 (63,9%) est statistiquement supérieure à celles du HSV-1 et du VZV (48,8% et 45,6%, $P < 0,0001$). En revanche, chez les hommes, la fréquence de détection du HSV-2 (36,1%) est statistiquement inférieure à celles du HSV-1 et du VZV (51,2% et 54,5%, $P < 0,0001$) (Figure 1A). Le profil de détection dans le LCS en fonction de l'âge est spécifique de chaque virus : le pic de détection se situe entre 60 et 69 ans pour le HSV-1, et entre 20 et 49 ans pour le HSV-2. Pour le VZV, on observe une courbe bimodale avec un 1^{er} pic entre 20 et 39 ans, puis une augmentation régulière à partir de 50 ans (Figure 1B). Il existe aussi variation saisonnière de la détection des virus dans le LCS, avec en particulier une fréquence plus importante pendant la période automne/hiver pour le HSV-1, et pendant la période printemps/été pour le HSV-2. (Figure 1C). Les diagnostics cliniques les plus fréquemment retenus sont la méningoencéphalite (48,8%), due majoritairement au HSV-1 ou au VZV, et la méningite (45,0%), due majoritairement au HSV-2 ou au VZV. Parmi les 1852 patients dont le statut immunitaire est renseigné, seuls 28,6% sont immunodéprimés. Parmi les LCS positifs pour 1 virus, l'analyse biologique a montré qu'une pleiocytose (nombre de leucocytes $\geq 5/mm^3$) est absente pour 19,3% d'entre eux, et une hyperprotéinorachie ($>0,5$ g/L), pour 25,2% d'entre eux. Le nombre de leucocytes et la protéinorachie sont statistiquement plus élevés dans les LCS positifs pour le HSV-2 (270/ mm^3 et 1,08 g/L) que dans ceux positifs pour le HSV-1 (37/ mm^3 et 0,68 g/L) ou le VZV (78/ mm^3 et 0,84 g/L) ($P \leq 0,0001$). Parmi les 1833 patients pour lesquels la prise en charge thérapeutique était indiquée, 86,7% ont bénéficié d'un traitement antiviral par aciclovir et/ou valaciclovir.

CONCLUSION

Cette étude rétrospective nationale multicentrique menée sur la période 2014-2018 a permis de décrire les principales caractéristiques épidémiologiques et clinico-biologiques des infections neuroméningées dues aux alphaherpèsvirus. Ces infections ne sont pas favorisées par l'immunodépression. Par ailleurs, les infections du SNC par le HSV-2 sont plus fréquentes chez les femmes, durant la période printemps/été, et montrent les paramètres biologiques du LCS (leucocytes et protéinorachie) les plus fortement perturbés.

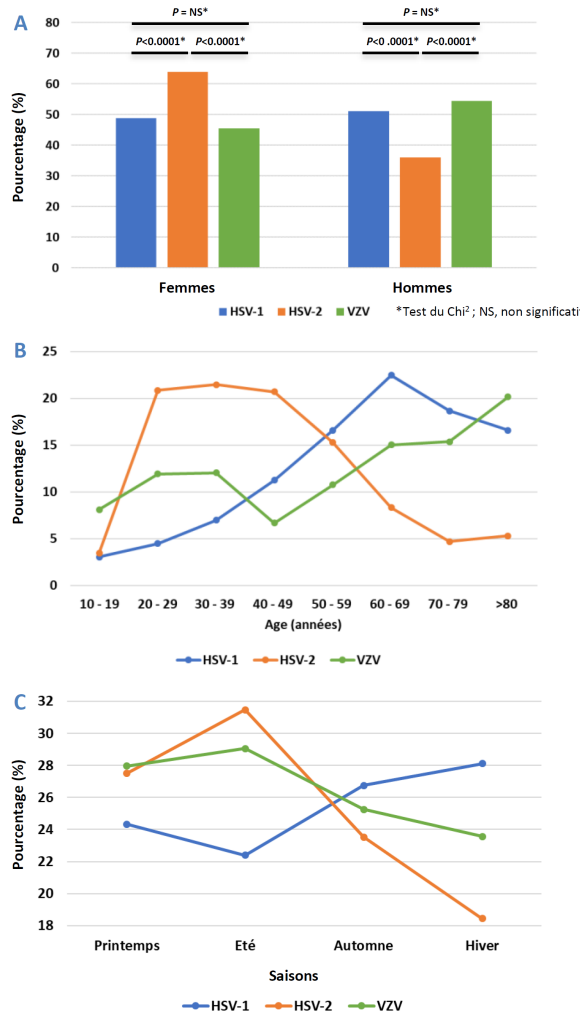


Figure 1. Répartition des LCS positifs pour le HSV-1, le HSV-2 et le VZV en fonction du sexe (A), de l'âge (B) et de la saison (C).

REFERENCE

1- JP Stahl. Update on HSV and VZV infections of the brain. Revue Neurologique 2019 ; 175 : 442-444.

4 Alerte

Le Laboratoire CNR a alerté en 2019 sur le risque d'émergence de résistance au letermovir en cas d'interruption de traitement prophylactique ou curatif et sur l'intérêt des dosages de letermovir dans ce contexte. L'analyse des cas de résistance au letermovir pendant la période d'ATU et la mise en place de dosages de letermovir ont permis de montrer l'émergence de résistance précoce (détectée en Sanger et datée NGS) dans les 3 semaines suivant la reprise du traitement après l'interruption thérapeutique, localisée uniquement sur UL56, et non sur UL89. La diffusion a été faite via la Société Française de Greffe de Moelle (SFGMTC) lors du congrès 2020 de la SFGMTC en communication orale, et publiée ultérieurement (Alain S., Feghoul L. et al., JAC 2020).

Ceci relevant du conseil aux praticiens et restant de l'ordre du conseil thérapeutique nous n'avons pas alerté la DGS mais signalé ce point à l'ANSM, nous avons insisté sur la nécessité de disposer de prélèvements de bonne qualité au bon moment pour effectuer les dosages et sur l'importance du génotype de résistance, et attendons de statuer sur le risque réel de résistance avec l'analyse de l'ensemble des séquences des patients réfractaires au letermovir adressées au CNR dans le cadre de la future cohorte NaViRe.

5 Activités de rétro-information, de formation et de conseil

5.1 Formation aux professionnels de santé

5.1.1 Laboratoire CNR Limoges

***Enseignement post-universitaire :**

- Responsables de l'Unité d'enseignement de master 1 Sciences de la Vie et de la Santé depuis 2012 (S Alain puis S Hantz depuis 2016): « Epidémiologie et mécanismes de résistance aux anti-infectieux des agents anti-infectieux et parasitaires » 48 heures de cours, préparation d'articles et organisation des stages
- Coordination des cours de virologie aux DES et cours de DES : S Alain 16H dont Herpès virus, et TP de culture cellulaire 20 H, S Hantz 10H)
- Référent enseignement pour le site de Limoges pour le DHU transplantation SUPORT Tours, Poitiers, Limoges, créé en 2013 noté A+ et validé en 2014. (S Alain) puis 2019.
- M2 Infectiologie cellulaire et moléculaire, vaccinologie, anticorps thérapeutiques/ Université de Tours : UE agents infectieux et chimiorésistance : Résistance des Herpesvirus au traitement antiviral (S Hantz, 2h30)
- M2 Université de Limoges « résistance aux antiviraux » S Alain, « Virome » S Hantz
- DU transplantation pulmonaire : Marie Lannelongue, Paris Janvier 2015, nov 2016, Nov 2018, Nov 2020 : Les infections à CMV (S Alain)
- DIU Médecine interne et grossesse Limoges 2016, 2017, 2018, 2019, 2021 : cytomegalovirus (S Alain)
- DU Insuffisance cardiaque avancée Université de Montpellier, mai 2020, mai 2021 "Virologie et greffes, hors hépatites »

***Formation continue aux professionnels de santé :**

- Participation au staffs de diagnostic anténatal
- Organisation du dépistage anténatal du CMV congénital à partir de Janvier 2020 : Staffs de formation, proposition d'algorithme et formation des équipes (S Alain , S Hantz, Perrine Coste-Mazeau) avec staffs mensuels.
- **Formations nationales :**
 - "CMV chez le patient allogreffé de CSH, antiviraux et mécanisme d'action" S Alain Séminaire MSD, Lyon 1 Nov. 2019
 - «CMV état des lieux et nouvelles thérapeutiques »: Interrelations CMV ET VIH : quels impacts et quel apport des nouvelles thérapeutiques ? S Alain Séminaire MSD, Lyon, 26 janvier 2020.
 - Webinar SFGMTC 2020 : Infections virales chez les patients greffés de cellules souches hématopoïétiques :les challenges actuels et à venir Surveillance de la charge virale CMV en pratique, S Alain

- « Infections maternofoetales à CMV: Quoi de neuf en anténatal? » Assises de gynécologie obstétrique, Lille, 29 Novembre 2019.
- « Nouvelles cibles thérapeutiques » S Hantz, Journées Francophones de Virologie 2021.
- o **Formations internationales :**
- ESCMID Post graduate Course : 3rd course on encephalitis . Grenoble 26-28 Juin 2019 “The value of new tools and trusted recipes in the aetiological diagnosis of encephalitis”. S Alain
- 13th lung transplant international congress, Paris March 2019 “CMV New therapeutics”. S Alain

***Accueil de stagiaire/collègue étranger**

Pour transfert de techniques d'analyse de mutations de résistance par la technologie des Bacmides CMV

- o En 2019-2020 Sabrina Jarbouï doctorat d'Université de l'Université de Tunis.
- o En 2020-2021 Marta Santos doctorat d'Université de l'Université de Barcelone

5.1.2 Laboratoire associé Necker

***Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé**

- Séminaire de DES socle de Biologie Médicale Université de Paris : « Infections materno-fœtales ».
- Enseignement dirigé DFGSM3 Université de Paris: « Diagnostic des infections virales et grossesse ».
- Cours magistral DFGSM3 Université de Paris: « Diagnostic de l'infection à cytomégalovirus».
- Cours au Master 2 de Diagnostic Prénatal Université de Paris : « Interprétation des sérologies pendant la grossesse ».
- Cours Master 2: Infectiologie : Microbiologie, Virologie, Immunologie (IMVI) : Infections à CMV : physiopathologie et diagnostic
- Cours Master I : INFECTIOLOGIE : MICROBIOLOGIE, VIROLOGIE, IMMUNOLOGIE (IMVI) MICROBIOLOGIE. S4 Pathologie Infectieuse: CMV mère-enfant
- Cours Diploma Course in fetal Medicine, UMP, HCMV , Vietnam

***Enseignement formation continue 2019/2020**

- o -Organisation d'un « staff » multidisciplinaire (obstétriciens, pédiatres, neurologues, radiologues, ORL) hebdomadaire pour discuter les cas d'infections congénitales à CMV en cours de prise en charge. Ce staff est en vidéoconférence et permet de discuter des cas présentés par d'autres équipes.
- o -Formation continue pour les obstétriciens, pédiatres et sages-femmes au niveau national et international: Epidémiologie et diagnostic de l'infection congénitale à CMV. M Leruez-Ville. Table Ronde. Journées Nationales de Néonatalogie, 28-29 Mars 2019. Diploma course in fetal medicine, avril 2019, Vietnam, Réunion Pédiatrie Générale Necker, 8 mars 2019
- o -Organisation du dernier Congrès de l'ECCL (European Congenital CMV initiative) (Marianne Leruez-Ville, Co-présidente) : 321 participants venant de toute l'Europe.

***Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques**

- Accueil dans le cadre des activités du CNR :
 - o 1 stagiaire de M1 en juillet/aout 2019,
 - o 1 stagiaire Master 2 (2020/2021).

5.1.3 Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

* Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé

Titre de l'enseignement	Niveau	Etablissement	Intervenant
Herpèsvirus : HSV et VZV	DFGSM3	Faculté de Médecine (Sorbonne Université)	DB
Herpèsvirus : CMV et EBV	DFGSM3	Faculté de Médecine (Sorbonne Université)	DB
ED : infections par les herpèsvirus	DFGSM3	Faculté de Médecine (Sorbonne Université)	DB SB
ED : virus et grossesse	DFGSM3	Faculté de Médecine (Sorbonne Université)	DB
Méningites et encéphalites virales	DES	Faculté de Médecine (Paris Descartes)	DB
Infections cutanées	DES	Faculté de Médecine (Paris Descartes)	SB
Antiviraux hors VIH et hépatites virales	DESC	Faculté de Médecine (Sorbonne Université)	DB
Diagnostic virologique : virus à expression cutanée	DIU	Faculté de Médecine (Paris-Est Créteil et UPMC)	DB
Antiviraux pour le traitement des infections par les herpèsvirus	DIU	Faculté de Médecine (Paris Diderot, Paris Descartes, Sorbonne Université, Versailles Saint Quentin, Bordeaux Segalen)	DB
Pathologie de la muqueuse buccale	DIU	Faculté de Médecine (Sorbonne Université et Tours)	SB
Infections virales latentes : exemple du HSV	M1	Faculté de Médecine (Sorbonne Université)	DB SB
Infections virales latentes : herpèsvirus	M1	Faculté des Sciences (Sorbonne Université)	SB
Stratégies antivirales pour les virus latents. Ex : les herpèsvirus	M2	Faculté des Sciences (Paris Descartes, Sorbonne Université, Paris Diderot)	DB

DB : David Boutolleau ; SB : Sonia Burrel

DES : Diplôme d'Etudes Spécialisées ; DESC : Diplôme d'Etudes Spécialisées Complémentaires ; DFGSM3 : Diplôme de Formation Générale en Sciences Médicales ; DIU : Diplôme Interuniversitaires ; ED : enseignements dirigés ; M : Master

Le Dr David Boutolleau participe à la RCP « Immunité et Infection », organisée tous les 15 jours sur le site de la Pitié-Salpêtrière, concernant la prise en charge des infections virales opportunistes chez les patients immunodéprimés, et à la RCP « Complications infectieuses des biothérapies en neurologie » organisée tous les mois sur le site de la Pitié-Salpêtrière.

Le laboratoire associé Pitié-Salpêtrière a organisé le vendredi **14 juin 2019** une **journée scientifique d'information sur les infections par les alphaherpèsvirus (HSV et VZV)**. Il s'agissait de faire le point sur les dernières avancées et connaissances dans les domaines des infections pulmonaires, oculaires, neurologiques et mère/enfant par les HSV et VZV, ainsi qu'en matière de résistance des HSV et VZV aux antiviraux, de phylogénie des HSV, et de vaccination anti-VZV. Enfin, les premiers résultats de l'étude RetroAlpha 14-18 ont été présentés à cette occasion. Cette réunion a réuni 70 biologistes venant de CH et de CHU de Paris/Région parisienne et de Province. Ce type de journée est appelé à être renouvelé.

Programme de la journée

9h30 - 9h45	Accueil des participants	
9h45 - 10h00	Dr David BOUTOLLEAU et Dr Sonia BURREL Service de virologie - Hôpital Pitié-Salpêtrière	Présentation de la journée
10h00 - 10h30	Pr Charles-Edouard LUYT Service de médecine intensive réanimation Hôpital Pitié-Salpêtrière	Atteintes pulmonaires par HSV et VZV
10h30 - 11h00	Dr Antoine ROUSSEAU Service d'ophtalmologie - Hôpital Bicêtre	Atteintes oculaires par HSV et VZV
11h00 - 11h30	Pause-café	
11h30 - 12h00	Pr Flore ROZENBERG Service de virologie - Hôpital Cochin	Atteintes neurologiques par HSV et VZV
12h00 - 12h30	Dr David BOUTOLLEAU Service de virologie - Hôpital Pitié-Salpêtrière	Premier bilan de l'étude nationale des infections neuroméningées par HSV et VZV
12h30 - 13h00	Dr Valérie MARTINEZ-POURCHER Service des maladies infectieuses et tropicales Hôpital Pitié-Salpêtrière	Vaccination anti-varicelle et anti-zona
13h00 - 14h15	Déjeuner	
14h15 - 14h45	Dr Marianne LERUEZ-VILLE Service de virologie - Hôpital Necker	Infections mère/enfant par HSV et VZV
14h45 - 15h15	Dr David BOUTOLLEAU et Dr Sonia BURREL Service de virologie - Hôpital Pitié-Salpêtrière	Bilan de dix années de diagnostic de la résistance des HSV et VZV aux antiviraux
15h15 - 15h45	Dr Dimitri TOPALIS Institut REGA pour la recherche médicale Université de Louvain, Belgique	Résistance des HSV et VZV aux antiviraux : aspects moléculaires et relations structure-activité
15h45 - 16h10	Dr Sonia BURREL Service de virologie - Hôpital Pitié-Salpêtrière	Histoire évolutive des virus herpes simplex (HSV)
16h10 - 16h30	Tous les participants Dr David BOUTOLLEAU et Dr Sonia BURREL Service de virologie - Hôpital Pitié-Salpêtrière	Questions diverses et conclusions
Fin de la journée		

Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion)

- Plaquette de conseils d'Hygiène, mise à jour, sur le site du CNR et en gynécologie
- Fiche technique prélèvement salivaire pour diagnostic de l'infection congénitale chez le nouveau-né (site du CNR)
- Algorithme de prise en charge des suspicions d'infection congénitale (site du CNR)
- D Boutolleau, S Burrel , S Hantz et S Alain participent aux recommandations de prise en charge des infections ORL à Herpèsvirus pour la Société Française d'OtoRhino Laryngologie. Recommandations publiées pour l'ensemble des virus dans un ouvrage collectif en 2021
- Les différents membres du CNR participent à la révision du prochain guide REMIC pour la microbiologie/virologie médicale
- S Hantz a coordonné un numéro spécial de la Revue Française des laboratoires sur Virus et transplantation en 2020.
- M Leruez a proposé un algorithme décisionnel de prise en charge de l'infection congénitale à CMV dans le journal international AJOG, en 2021
- P Coste Mazeau, S Hantz et S Alain ont proposé une prise en charge des infections congénitales avec un algorithme décisionnel tenant compte des propositions de l'équipe de Necker dans les feuillets de biologie et lors d'une intervention au collège de microbiologie des Hôpitaux. En 2021

Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR / Rétro-information aux partenaires

- Newsletter annuelle pour le recensement des infections congénitales et pour la surveillance des infections néonatales à HSV, adressée à l'ensemble du réseau et consultable sur le site du CNR
- Nombreuses conférences invitées permettant la diffusion des données de surveillance de résistance (cf liste) et des recommandations du CNR

Information/formation des professionnels de santé : site internet

- Adresse du site internet : www.unilim.fr/cnr-cytomegalovirus/
- **Elargi en 2018 aux autres herpesvirus**
- Mise à jour et diffusion des évaluations techniques et des recommandations du CNR sur le site du CNR
- Diffusion de la version publique du rapport annuel
- Lien avec d'autres sites sur le sujet notamment dans le cadre de l'infection congénitale à CMV
- Diaporamas des conférences et FMCs
- Création d'une page spécifique HSV /VZV en cours
- Intégration de la base de données résistance CMV (en cours)

5.2 Conseil aux professionnels de santé

- **Infection congénitale à CMV**
- Nous recevons des appels téléphoniques ou des emails de médecins, sages-femmes ou de patients (ayant trouvé nos coordonnées par internet) pour des conseils concernant l'interprétation de résultats de tests sérologiques pendant la grossesse ou dans le cadre des dons de gamètes. Il s'agit parfois de conseils pour entreprendre une grossesse après une primo-infection, de conseils sur la prise en charge de l'infection foetale puis pédiatrique. Par ailleurs, nous conseillons aussi nos collègues biologistes sur les performances et interprétation des techniques (sérologie mais aussi PCR CMV sur salive...). Le Pr Sophie Alain, le Dr S Hantz assurent la permanence du conseil sur l'infection congénitale à CMV au laboratoire CNR, avec environ un appel ou contact par jour A Necker le Dr Leruez-Ville reçoit environ 2 à 3 appels par jour. Nous recevons par ailleurs de nombreux tubes pour expertise sérologique et diagnostics prénatal et néonatal tant à Limoges qu'à Necker. Nous avons noté une augmentation des demandes concernant la prise en charge

des infections congénitales et une augmentation très importante des conseils sur les choix thérapeutiques chez les enfants infectés. La mise en place du dépistage en janvier 2020 à Limoges a également considérablement augmenté les échanges avec les gynécologues obstétriciens publics ou privés en plus du staff hebdomadaire, et nous accompagnons les équipes dans cette démarche. Un projet de Réseau hospitalier Universitaire initié par Necker avec la participation de Limoges est en cours d'élaboration.

- Prise en charge et traitement des infections à CMV, résistance aux antiviraux et nouvelles molécules thérapeutiques anti-CMV

- Conseil par mail ou téléphone auprès des Pr S Alain ou S Hantz qui centralisent les conseils aux cliniciens au laboratoire CNR de Limoges.
- La période de confinement puis de déconfinement a exigé une grande disponibilité pour conseiller les praticiens et les aider dans les choix thérapeutiques pour les patients difficiles à traiter ou des infections à CMV complexes notamment sous Belatacept, ou encore pour des infections à CMV hors transplantation, survenant sous biothérapies. De même toute la période des inclusions dans le protocole Solstice (traitement par maribavir des patients non répondeurs) puis le conseil aux cliniciens pour les demandes d'ATU en cas de multirésistance chez les patients immunodéprimés, notamment sur la place respectives des nouveaux antiviraux et des immunoglobulines et la surveillance de l'efficacité (plusieurs appels et mails quotidiens de l'ensemble de France métropolitaine Suisse et DOM TOM)).

- Infections à HSV et VZV

- Les Drs David Boutolleau et Sonia Burrel reçoivent quotidiennement en moyenne 5 appels téléphoniques ou courriels pour des questions concernant le diagnostic, la prise en charge thérapeutique ou la recherche de résistance aux antiviraux des infections par les HSV, le VZV, ou le CMV. Ils participent aux RCP organisées sur le site de la Pitié Salpêtrière.
- Le Pr S Alain et le Pr S Hantz reçoivent également des appels pour des cas difficiles d'infection à HSV ou VZV. Ils font appel si nécessaire à leurs collègues du laboratoire associé

-Infections à autres Herpesvirus

- Globalement le laboratoire de Grenoble gère par année une 30aine de prestations de conseil sur l'EBV dont environ 5 à 10 sont envoyés par les coordonnateurs du CNR Herpesvirus, à Limoges. Les personnes qui nous contactent sont principalement des médecins cliniciens et des collègues biologistes. Concernant l'EBV, la prestation de conseil porte le plus souvent sur l'interprétation de résultats de tests sérologiques EBV ou sur la discussion autour de cas graves ou atypiques d'infection à EBV.
- Les conseils concernant les infections à HHV6 sont, si nécessaire, aiguillés vers Limoges ou la Pitié. Les demandes concernent le plus souvent des recherches d'ADN intégré ou des atteintes neurologiques.

- RCP Nationales

- Le Pr S Alain et le Pr P Morand participent à une **RCP nationale sur les encéphalites infectieuses au titre du CNR des Herpesvirus**

5.3 Conseil et expertise pour les autorités sanitaires

- Le CNR participe au réseau ECCI (European Congenital CMV Initiative). Il s'agit d'un réseau d'experts travaillant sur l'infection congénitale à CMV et dont le but est d'accroître les connaissances du public et des professionnels de santé sur l'infection congénitale à CMV et de promouvoir la recherche sur cette thématique. Ce groupe est organisé en société hébergée par la European Society of Clinical Virology. Marianne Leruez-Ville fait partie du board en tant que trésorière. Le board se réunit une fois par mois. ECCI organise un meeting tous les 2 ans, le dernier meeting a été organisé par Marianne Leruez-Ville à Paris (Co-Présidente) (Novembre 2020).
- Le CNR participe à la surveillance des nouveaux antiviraux disponibles en ATU (S Alain intervient en tant qu'expert auprès de l'ANSM pour les ATU), et auprès de la HAS pour valider les indications d'AMM des anti-CMV : S Hantz (Letermovir) et Sophie Alain (Foscarnet).

- le CNR est intervenu en tant qu'expert (M Leruez) ou membre de commission (S Alain) auprès du Haut Conseil de Santé Publique (Avis sur le dépistage du CMV, avis 2018, et publication : Billette de Villemeur et al. BMJ 2020) et auprès de l'Académie de Médecine (M Leruez, Avis sur le dépistage CMV 2019).
- Le CNR intervient également en tant qu'expert pour les autorités de santé d'autres pays notamment pour expertiser des dossiers de Centres de Référence (S Alain, Sciensano, 2020)

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

- Boutolleau D. **Bouton de fièvre : pourquoi est-il impossible de se débarrasser de son herpès labial ?** (*Le Figaro.fr Santé, 28 novembre 2019*)
- Boutolleau D. **Peut-on avoir des relations sexuelles en cas d'herpès génital ?** (*Le Figaro.fr Santé, 20 décembre 2019*)
- S Alain : *Relecture de la fiche de formation destinée aux pharmaciens d'officine pour le Moniteur des Pharmacies (mars 2019)*
- S Alain : *Relecture de documents d'hygiène et sécurité INPES concernant la transmission nosocomiale des infections à VZV.*
- S Alain, S Hantz : *Expertise de solutions hydroalcooliques et de procédés d'inhibition de surfaces, ou UV vis-à-vis des alphaherpesvirus pour différents industriels. Conseils pour une interprétation exacte des résultats.*

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 2019 et 2020, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

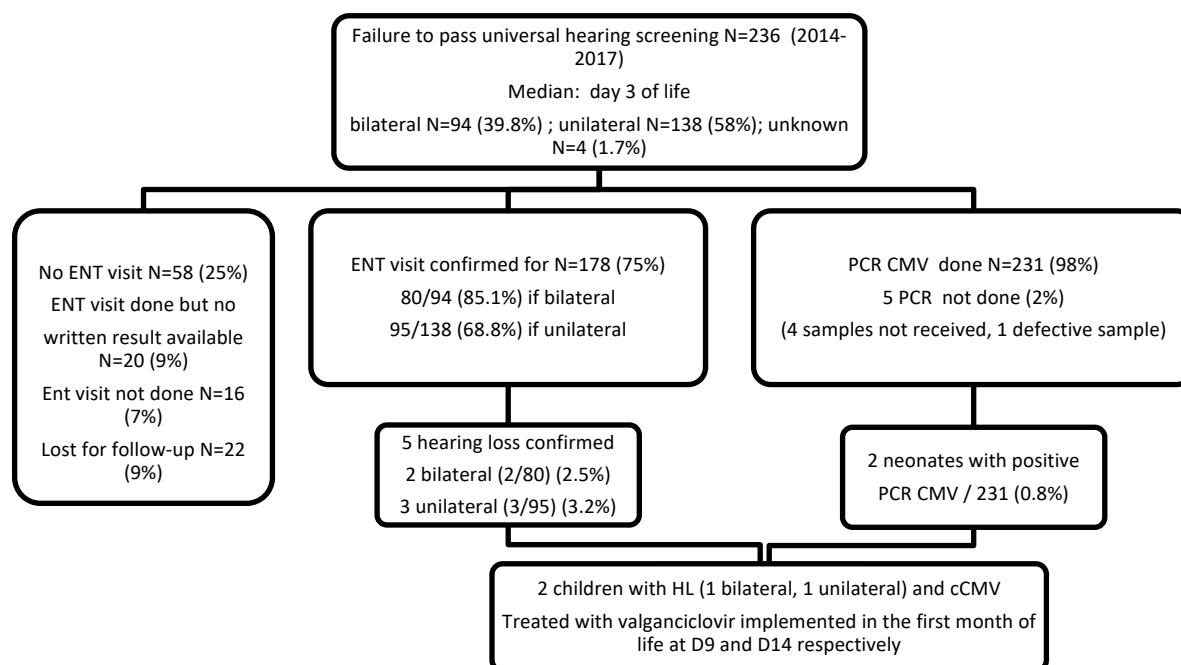
6.1.1 Infection congénitale à CMV

6.1.1.1 Laboratoire associé Necker

-Protocole CYMEAUDIT (NCT02139423) (investigateur principal : Dr Leruez-Ville)

Dans cette étude tous les nourrissons ayant échoués au dépistage universel de la surdité réalisé en maternité à J3 de vie étaient testés pour l'infection congénitale à CMV par le recueil d'un écouvillon salivaire. L'objectif principal de cette étude était de tester la faisabilité de connaître dans le premier mois de vie : le statut infecté ou non et la confirmation ou non d'un déficit auditif chez un nourrisson avec un dépistage positif de la surdité à J3 afin de pouvoir instaurer un traitement antiviral précoce. En effet, le traitement antiviral a un effet bénéfique sur le devenir auditif en limitant la dégradation de l'audition pendant la 1^{ère} année de vie. Cette efficacité thérapeutique a été rapportée chez des enfants traités dans leur premier mois de vie, d'où l'importance d'instaurer le traitement rapidement après la naissance.

236 nouveau-nés ayant un dépistage positif de la surdité (uni ou bilatérale) ont été inclus dans 5 maternités différentes. Un résultat de PCR CMV dans la salivaire a été obtenu pour 98% d'entre eux. Le résultat de la PCR CMV était disponible pour le pédiatre à une médiane de 8,8 [7,10] jours de vie de l'enfant et dans 96% des cas dans le 1^{er} mois de vie. Deux nouveau-nés étaient infectés. Le résultat de la visite de contrôle chez l'ORL a pu être récupéré pour 75% des enfants à un âge médian de 16 [9;26] jours de vie, les autres enfants n'ont pas eu de visite de contrôle ou ont été perdus de vue. Le déficit auditif a été confirmé pour 2.8% (5/175) des enfants dépistés. Notamment, le déficit auditif a été confirmé pour les 2 enfants infectés par le CMV, ces 2 enfants ont pu être traités par le valganciclovir respectivement à l'âge de 9 et 14 jours.



En conclusion, les résultats de notre étude démontrent la faisabilité d'instaurer un dépistage ciblé du CMV chez les nouveau-nés échouant au dépistage de la surdité en maternité. Ceci est important dans le contexte de la recommandation du HCSP de

« renforcer le repérage des infections chez la femme enceinte et le nouveau-né, et en particulier en cas de test douteux d'une seule oreille lors du dépistage néonatal systématique de la surdité » (hcspr20180518_pvedelinfectychezlafemence.pfd, 2018).

Les résultats de l'étude sont soumis pour publication (Performance of targeted congenital CMV screening in newborns failing universal hearing screening: a multicenter study (J Fourgeaud, C Boithias, E Walter; E Kermorvant; S Couderc, S Parat, C Pol ; C Mousset ; L Bussièrès ; T Guillemint Y Ville ; L Nkam, L Grimaldi; M Parodi, M Leruez-Ville, J Clin Virol,2021 soumis).

-Protocole CYMEPEDIA (NCT01923636) (Investigateur principal : Dr Leruez-Ville)

L'objectif principal de l'étude est d'élaborer une classification pronostique précoce (en période néonatale) de la survenue de séquelles neuro-développementales et sensorielles à un an et à 2 ans chez des enfants infectés in utero par le CMV. L'analyse de l'objectif principal a pris du retard avec la crise sanitaire mais elle devrait être terminée fin 2021.

Les objectifs secondaires sont :

- 1) Estimer la prévalence de l'infection congénitale à CMV en Ile de France dans une population de 12000 nouveau-nés issus du dépistage systématique : **fait et publié en 2017 (Leruez-Ville et al, Clin Infect Dis, 2017).**
- 2) Comparer la fréquence de survenue des séquelles neuro-développementales et sensorielles à 1 an et 2 ans en fonction du trimestre de survenue de la primo-infection maternelle : **fait et publié en 2019 (Faure-Bardon et al, Clin Infect Dis. 2019 69(9):1526-1532)**
- 3) Comparer la fréquence de survenue des séquelles neuro-développementales et sensorielles à 1 an et 2 ans en fonction de l'échographie et de l'IRM cérébrale anténatales : objectif en cours de réalisation. **Fait et publié en 2020**

Dans cette étude nous avons montré que la sensibilité de l'échographie de routine n'était pas suffisante pour repérer les fœtus infectés qui présenteraient des séquelles sévères de l'infection. En effet, la sensibilité de l'échographie de référence dans un contexte d'infection connue était excellente respectivement de 91 et 100% pour repérer les fœtus qui développeraient au moins une séquelle ou ceux qui développeraient une séquelle sévère. En revanche, la sensibilité de l'échographie de routine, en l'absence de connaissance de l'infection, avait une sensibilité de 48% et de 64% pour repérer les fœtus qui développeraient au moins une séquelle ou ceux qui développeraient une séquelle sévère. Ceci s'explique probablement par le fait que certains signes échographiques sont transitoires et que d'autres sont subtiles ou non spécifiques. Par conséquent, environ 70 à 80% des fœtus qui développeront des séquelles ne sont pas diagnostiqués par la prise en charge anténatale classique. Ceci repose la question du dépistage systématique de la primo-infection maternelle du 1^{er} trimestre. **(Leruez-ville et al, Ultrasound Obstet Gynecol. 2021 Jan; 57(1):97-104).**

- 4) Evaluer l'intérêt pronostique de la mesure périodique de la cinétique d'excrétion de la charge virale de la naissance à 2 ans pour la survenue des séquelles neuro-développementales et sensorielles à 1 et 2 ans. **Les résultats définitifs ont été présentés par J Fourgeaud et al à l'ECCI en novembre 2020 et une publication est en cours d'écriture.**

La valeur prédictive négative d'une PCR CMV négative dans la salive prélevée jusqu'à 6 mois était de 100% (Figure 1). 7% des nouveau-nés infectés avaient une PCR négative dans le sang total. Tous les nouveau-nés qui avaient ou ont développé des séquelles avaient une PCR CMV positive dans le sang avec une charge virale toujours > 3 log₁₀ copies/ml (Figure 2).

Figure 1

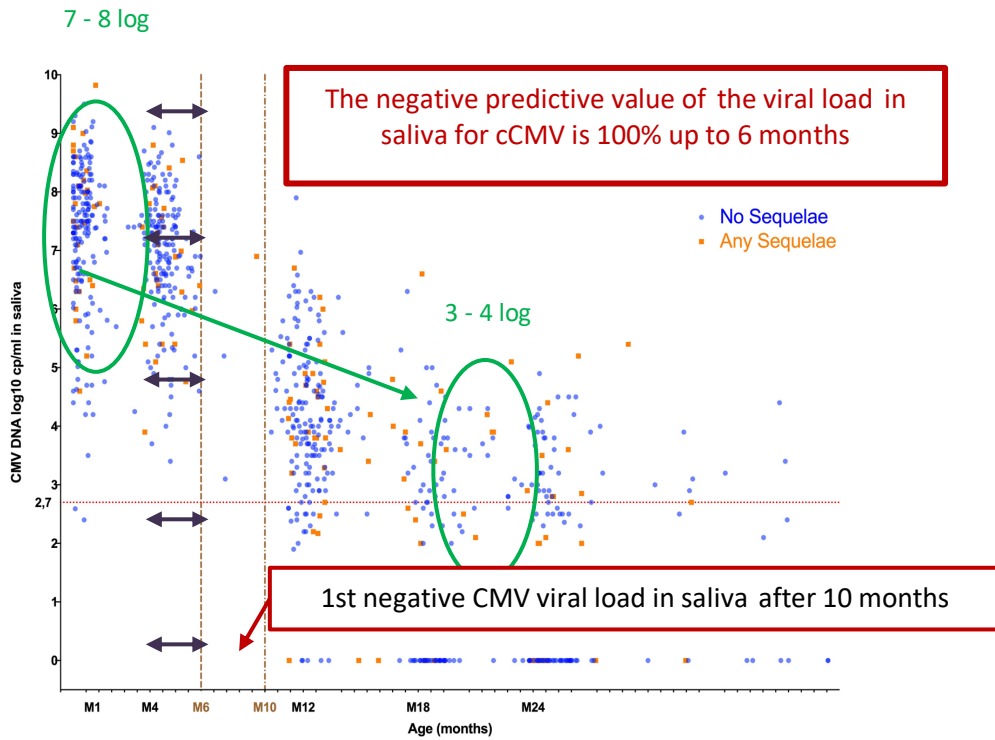
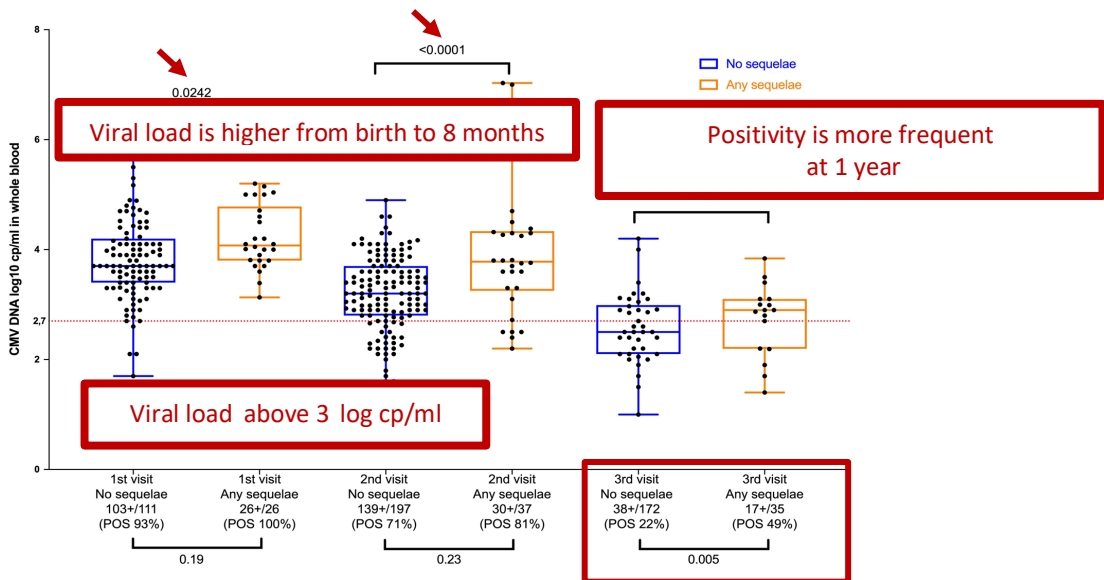


Figure 2 :

Blood viral load in children with or without sequelae



Protocole de traitement préventif de la transmission verticale du CMV par le valaciclovir

L'année 2020 a été marquée par les résultats positifs d'un essai clinique qui a testé l'efficacité du valaciclovir 8g/jour sur la transmission verticale du CMV chez des femmes enceintes ayant eu une primo-infection au 1^{er} trimestre de la grossesse. Il s'agit d'un essai en double aveugle valaciclovir contre placebo dans lequel 45 femmes ont été randomisées dans les 2 bras. Cet essai a montré une réduction de 70% du risque de transmission verticale. Ces résultats ont été communiqués en octobre 2019 et publiés en 2020 (Shahar-Nissan, Lancet, 2020).

Dans notre centre nous avons commencé à traiter les patientes ayant une primo-infection du premier trimestre dès que nous avons eu connaissance de ces résultats. Nous avons comparé les premiers 65 cas traités par valaciclovir avec des contrôles historiques appariés sur l'âge gestationnel à la primo-infection et l'âge gestationnel à l'amniocentèse (Table 1). Le score de proportion estimé par régression logistique montre que le traitement par valaciclovir et la survenue d'une primo-infection en période periconceptionnelle sont 2 facteurs indépendants associés à la diminution de la transmission verticale (table 2). La figure 1 montre une baisse significative de la transmission verticale de 29% à 12%, $p=0.029$ dans la population totale de l'étude et de 44% à 19%, $p=0.027$ dans la population des femmes ayant eu une primo-infection du 1^{er} trimestre. En revanche, chez les patientes ayant eu une primo-infection datée en période périconceptionnelle, l'effet du valaciclovir n'était pas significatif : 4% vs 8%, $p=0.60$.

Nos résultats reproduisent dans une autre population les résultats obtenus par l'équipe israélienne.

Ces résultats ont été publiés : Faure-Bardon V, **Fourgeaud J**, Stirnemann J, **Leruez-Ville M**, Ville Y. Secondary prevention of congenital CMV infection with valaciclovir following maternal primary infection in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021 May 16. doi: 10.1002/uog.23685.

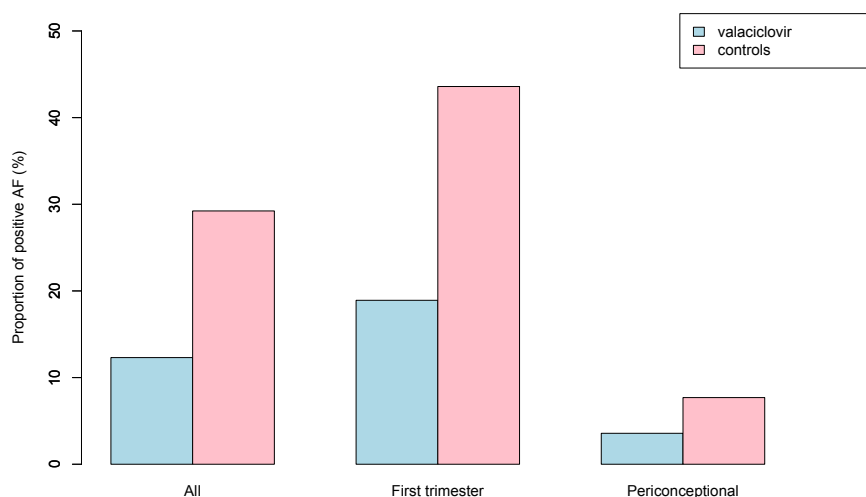
Table 1

Characteristic	Matched controls, N = 65 ¹	Cases, N = 65 ¹	p-value ³
Periconceptional infection	26 (40%)	28 (43%)	0.85
Gestational age at amniocentesis	18.30 (17.60, 19.30)	17.60 (17.10, 18.10)	<0.001
Duration of VCV therapy in days		35 (26, 54)	
Gestational age at initiation of VCV therapy in weeks		12.71 (10.00, 13.86)	
AF PCR	19 (29%)	8 (12%)	0.029
¹ Median (IQR); n (%)			
² Matched controls versus Cases; Wilcoxon rank sum test; Fisher's exact test			

Table2

Variable	Odds Ratio	95% confidence interval	P value
Treatment by VCV	0.318	[0.12-0.841]	0.021
Periconceptional infection	0.122	[0.0338-0.439]	0.001
Gestational age at amniocentesis, weeks	0.994	[0.699-1.41]	0.972

Figure 1



6.1.1.2 Laboratoire CNR Limoges :

- CMV et autisme

Caractérisation au sein d'une population d'enfants autistes de facteurs associés à l'autisme par machine learning sur imagerie cérébrale et données de grossesse : mise en évidence d'un lien entre séroposivité CMV et autisme. Ce travail collaboratif a impliqué l'Université d'Aix Marseille, le service de gynécologie-obstétrique du CHU de Limoges (P Coste-Mazeau et H Caly) et les membres du laboratoire CNR de Limoges (S Hantz et S Alain). Résultats publiés dans Nature Scientific Reports, (Caly et al., SC Reports 2021).

- Evaluation du potentiel inhibiteur et de la toxicité du letermovir dans le placenta

(sur les modèles d'histoculture et de souris humanisées développés au laboratoire)

Les premiers résultats sur cultures cellulaires et histocultures ont été obtenus en janvier 2019 et ont été présentés au 19eme workshop CMV Avril 2019, Birmingham USA.

A ce jour nous avons démontré une efficacité du letermovir pour prévenir la multiplication du CMV en Histoculture de villosités du premier trimestre de grossesse, sans toxicité significative, avec une CI50 voisine de celle obtenue par l'antivirogramme en

culture cellulaire. Nous étudions actuellement le bénéfice potentiel des associations d'antiviraux. La publication est en préparation.

Evaluation de nouveaux antiviraux sur histoculture placentaire de décidua et de villosités de premier trimestre et caractérisation de la multiplication des souches d'infection congénitale.

Nous étudions actuellement dans le modèle d'histoculture placentaire de nouveaux inhibiteurs de polymérase virale et plusieurs anticorps. Nous avons d'ores et déjà démontré la capacité du Cytotect CP à inhiber l'infection placentaire et poursuivons ce travail avec d'autres anticorps sur différentes souches d'infection congénitale dont le génome a été préalablement caractérisé par séquençage haut débit. Les résultats, qui font partie du travail de doctorat du Dr Perrine Coste Mazeau, gynécologue, seront présentés en 2022.

6.1.2 Nouvelles cibles thérapeutiques anti CMV

Laboratoire CNR Limoges

- La synthèse des travaux récents que nous avons publiée en 2018 (Ligat et al., FEMS 2018), et les résultats favorables de l'étude de phase III du letermovir en prophylaxie des infections à CMV après allogreffe de moelle montrent tout l'intérêt du complexe terminase comme cible antivirale. Les terminases forment un complexe sans équivalent dans les cellules eucaryotes, ce qui laisse espérer une faible toxicité des inhibiteurs, confirmée par nos travaux *ex vivo* sur le placenta (Andouard et al. CMV Workshop 2019). Nous avons décrit en 2017 plusieurs domaines essentiels à l'activité de la protéine UL56, (Ligat et al, Scientific Reports 2017) et nous avons précisé les domaines essentiels à l'activité de pUL56 et à son interaction avec pUL89 (Ligat et al., Viruses 2019 ;).

Le projet actuel vise à étendre le choix des cibles potentielles au sein de ce complexe à partir des domaines fonctionnels que nous avons définis. Pour ce faire nous avons étudié et caractérisé les domaines fonctionnels de la protéine UL52 du CMV, dans le cadre du travail de doctorat de Clotilde Muller (S Hantz) et les résultats seront présentés à l'ECCMID 2021.

- Brevet déposé par l'Inserm pour l'UMR 1092, sur le domaine de la protéine terminase pUL56, caractérisé par G Ligat et l'équipe pendant son doctorat Numéro de dépôt : EP17305987.4 Inventeurs : LIGAT G 30% , ALAIN S 20%, HANTZ S 20%, COUVREUX A 30%. Date de dépôt : 24/07/2017. Poursuite des travaux par le développement de peptides inhibiteurs.

Dépôt à l'International : 2020.

6.1.3 Résistance aux antiviraux et facteurs de risque

Laboratoire CNR Limoges

-Orphavic :

L'Observatoire de la Résistance incluant dosages de ganciclovir et analyse uni et multivariée des facteurs de risque est en cours d'analyse pour publication.

- **TTV** : Un des facteurs de risque majeur de la survenue de résistances est l'intensité de l'immunosuppression. Pour la mesurer en continu, une possibilité serait la surveillance simultanée de la charge virale des Torquetenovirus. Les Torquetenovirus (TTV) sont des virus orphelins, de la famille des anellovirus, dont la séroprévalence est supérieure à 90%, et dont la charge virale fluctue en fonction du degré d'immunosuppression. La corrélation entre Quantiferon CMV et charge virale TTV pour la prédiction des infections à CMV est en cours d'analyse à partir du protocole **QuantiCR+**. Après avoir contribué à la standardisation de ce marqueur par la validation d'une PCR standardisée (cf rapport 2018 et Kulifaj et al., 2018), nous avons analysé l'évolution des populations virales du donneur vers le receveur pour rechercher une expansion clonale ou polyclonale de certains génotypes , et étudier leur transmission. Pour ce faire nous avons analysé ces populations en NGS chez les donneurs et leurs receveurs de rein. Les résultats publiés en 2020 (Kulifaj et al. J Med Virol. 2020). En pratique, s'il existe bien une expansion des TTVs après la greffe chez le receveur, ceux-ci ne correspondent pas systématiquement à un génotype du donneur et varient en nombre et importance selon les patients. **Il faut donc vraisemblablement considérer la charge virale TTV comme un marqueur global, et privilégier des méthodes mesurant la charge virale totale, sans omettre de génotype pour suivre les patients transplantés.**

6.1.4 Alpha herpesvirus

Epidémiologie des souches d'HSV

Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

Les résultats obtenus dans le cadre de notre collaboration avec Sébastien Calvignac-Spencer (Institut Robert Koch, Berlin, Allemagne) et Joel Wertheim (Université de Californie, San Diego, Etats-Unis) concernant les études phylogénétique et phylogéographique des HSV ont fait l'objet d'une communication orale au 28^e congrès « *International Dynamics and Evolution of Human Viruses* » : Havens J, Calvignac-Spencer S, Burrel S, Boutolleau D, Wertheim J. **Timing HSV-2 migration out of Africa using an undetectable molecular clock**. Online meeting. 5 - 7 mai 2021.

6.1.5 Participation du CNR à des projets de Recherche clinique concernant les Herpesvirus et dont l'investigateur principal n'est pas le CNR

- Promotion académique : « preemptive treatment for herpesviridae », Laurent PAPAZIAN, Marseille publié (cf liste)
- Promotion académique : EverCMV (Bordeaux) Impact de l'éverolimus sur les infections à CMV en greffe rénale
- Promotion industrielle, Shire :Aurora 302 : co-investigateur
- Promotion industrielle, Shire :Solstice 303 : co-investigateur, PI France , publication en cours

6.2 Liste des publications et communications 2019-2021, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Coordination d'ouvrages

Le CNR Herpès virus (laboratoire de la Pitié Salpêtrière, D Boutolleau, S Burrel) a coordonné la rédaction du Traité de Virologie, paru en 2019, auquel les différents laboratoires du CNR ont largement contribué par la rédaction des différents chapitres concernant les herpesvirus.

Les Dr David Boutolleau et Sonia Burrel ont coordonné cette 2^e édition du Traité de Virologie Médicale (2019) (avec les Dr Sylvie Pillet et Thomas Mourez)

ainsi que le numéro spécial de la revue Virologie consacrée aux virus herpes simplex (2020).

Le CNR (laboratoire coordonnateur Limoges, S Alain) coordonne également la rédaction des recommandations nationales sur la prise en charge des infections virales en ORL, auxquelles les autres laboratoires du CNR ont également participé pour les chapitres herpesvirus. En cours de relecture

Le Pr S Hantz a coordonné la rédaction d'un numéro spécial de la revue française des laboratoires dédiés à virus et transplantation. Parue en 2020

Chapitres de livres

- Burrel S, Boutolleau D, Mourez T, Rodriguez C, Pillet S. Examens virologiques en pratique médicale. Chapitre 8. In Traité de Virologie Médicale, 2^e édition, Société Française de Microbiologie (Ed) ; 2019 : pp 121-146.
- Burrel S, Boutolleau D. Introduction aux *Herpesviridae*. Chapitre 13. In Traité de Virologie Médicale, 2^e édition, Société Française de Microbiologie (Ed) ; 2019 : pp 201-208.
- Burrel S, Boutolleau D. Virus herpes simplex. Chapitre 14. In Traité de Virologie Médicale, 2^e édition, Société Française de Microbiologie (Ed) ; 2019 : pp 209-224.

- Boutolleau D, Ducancelle A, Burrel S. Virus de la varicelle et du zona. Chapitre 15. *In* Traité de Virologie Médicale, 2^e édition, Société Française de Microbiologie (Ed) ; 2019 : pp 225-237.
- Gautheret-Dejean A, Agut H. Herpesvirus humains 6 et -7. *In* Traité de virologie médicale 2^e édition (coordonnateurs T Mourez, S Burrel, D Boutolleau, S Pillet), Société française de microbiologie éditeur, 2019, pp 279-288.
- ALAIN S, GARRIGUE I Cytomégaovirus Traité de virologie médicale révision 2017 *In* Traité de virologie médicale 2^e édition (coordonnateurs T Mourez, S Burrel, D Boutolleau, S Pillet), Société française de microbiologie éditeur, 2019, pp 239-256.

Publications Nationales

- Hantz S, Alain S. [Cytomegalovirus infections]. Rev Prat 2019, 69 (3), 301–306.
- Leruez-Ville M, Ville Y. Infection à cytomegalovirus chez la femme enceinte. Revue Francophone des Laboratoires. N°509. Février 2019
- Leruez-Ville M, Ville Y. L'épidémiologie et le diagnostic virologique de l'infection materno-fœtale à cytomegalovirus. Bull Acad Natl Med (2020) 204 :126-136.
- [Herpes simplex virus infections during pregnancy: epidemiology, clinical presentation and management]. Leruez-Ville M, Driessen M, Pichon C, Sellier Y, Charlier C. *Virologie* (Montrouge). 2020 Oct 1;24(5):315-324. doi: 10.1684/vir.2020.0861.
- Boutolleau D, Burrel S. Pouvoir pathogène et prise en charge thérapeutique des infections par les virus herpes simplex 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2) : où en sommes-nous en 2020 ? *Virologie* 2020 ; 24 : 281-282.
- Burrel S, Topalis D, Boutolleau D. Résistance des virus herpes simplex aux antiviraux. *Virologie* 2020 ; 24 : 325-342.

Publications Internationales

- Piret, J.; Schibler, M.; Pham, V. D.; Hantz, S.; Giannotti, F.; Masouridi-Levrat, S.; Kaiser, L.; Goyette, N.; Alain, S.; Shi, R.; Boivin, G. Compartmentalization of a Multidrug-Resistant Cytomegalovirus UL54 Mutant in a Stem Cell Transplant Recipient with Encephalitis. *J Infect Dis* 2019, 220 (8), 1302–1306. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz298>.
- .Ligat, G.; Couvreur, A.; Cazal, R.; Alain, S.; Hantz, S. Highlighting of a LAGLIDADG and a Zing Finger Motifs Located in the PUL56 Sequence Crucial for HCMV Replication. *Viruses* 2019, 11 (12). <https://doi.org/10.3390/v11121093>.
- Jacquet, C.; Marschall, M.; Andouard, D.; El Hamel, C.; Chianea, T.; Tsogoeva, S. B.; Hantz, S.; Alain, S. A Highly Potent Trimeric Derivative of Artesunate Shows Promising Treatment Profiles in Experimental Models for Congenital HCMV Infection in Vitro and Ex Vivo. *Antiviral Res* 2020, 175, 104700. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.104700>.
- Alain, S.; Garnier-Geoffroy, F.; Labrunie, A.; Montané, A.; Marin, B.; Gatet, M.; Grosjean, J.; Dufour, V.; Saugeras, M.; Postil, D.; Hantz, S. Cytomegalovirus (CMV) Shedding in French Day-Care Centers: A Nationwide Study of Epidemiology, Risk Factors, Centers' Practices, and Parents' Awareness of CMV. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2020. <https://doi.org/10.1093/jpids/piz097>. PMID: 32068854
- Ligat, G.; Muller, C.; Alain, S.; Hantz, S. The terminase complex, a relevant target for the treatment of HCMV infection. *Med Sci (Paris)* 2020, 36 (4), 367–375. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020063>.
- Robin, C.; Thiebaut, A.; Alain, S.; Sicre de Fontbrune, F.; Berceanu, A.; D'Aveni, M.; Ceballos, P.; Redjoul, R.; Nguyen-Quoc, S.; Bénard, N.; Pahlavan-Grumel, G.; Cordonnier, C. Letermovir for Secondary Prophylaxis of Cytomegalovirus Infection and Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Results from the French Compassionate Program. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020, 26 (5), 978–984. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2020.01.027>.
- Alain S.; Feghoul L.; Girault S.; Lepiller Q.; Frobert E.; Michonneau D.; Berceanu A.; Ducastelle-Lepretre S.; Tilloy V.; Guerin E.; Le Goff J.; Peytavin G.; Hantz S. Letermovir breakthroughs during the French Named Patient Programme: interest of monitoring blood concentration in clinical practice [published online ahead of print, 2020 May 15]. *J Antimicrob Chemother.* 2020;dkaa135. doi:10.1093/jac/dkaa135
- Kulifaj, D.; Tilloy, V.; Scaon, E.; Guerin, E.; Essig, M.; Pichon, N.; Hantz, S.; De Bernardi, A.; Joannes, M.; Barranger, C.; Alain, S. Viral metagenomics analysis of kidney donors and recipients: Torque teno virus genotyping and prevalence. *J Med Virol.* 2020 Jul 13. doi: 10.1002/jmv.26298.

- Billette de Villemeur A, Tattevin P, Salmi L.R. and the [French Haut Conseil de la Santé Publique Working Group](#). Hygiene promotion might be better than serological screening to deal with Cytomegalovirus infection during pregnancy: a methodological appraisal and decision analysis. *BMC Infectious Diseases* (2020) 20:418 <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05139-8>
- Caly H, Rabiei H, Coste-Mazeau P, [Hantz S](#), [Alain S](#), Eyraud JL, Chianea T, Caly C, Makowski D, Hadjikhani N, Lemonnier E, Ben-Ari Y. Machine learning analysis of pregnancy data enables early identification of a subpopulation of newborns with ASD. *Sci Rep.* 2021 Mar 25;11(1):6877. doi: 10.1038/s41598-021-86320-0. PMID: 33767300; PMCID: PMC7994821.
- Muller C, [Alain S](#), Baumert TF, Ligat G, [Hantz S](#). Structures and Divergent Mechanisms in Capsid Maturation and Stabilization Following Genome Packaging of Human Cytomegalovirus and Herpesviruses. *Life (Basel)*. 2021 Feb 16;11(2):150. doi: 10.3390/life11020150. PMID: 33669389; PMCID: PMC7920273.
- Santos Bravo M, [Plault N](#), Sánchez Palomino S, Mosquera Gutierrez MM, Fernández Avilés F, Suarez Lledo M, Sabé Fernández N, Rovira M, [Alain S](#), Marcos Maeso MÁ. Phenotype and genotype study of novel C480F maribavir-ganciclovir cross-resistance mutation detected in hematopoietic stem cell and solid organ transplanted patients. *J Infect Dis.* 2021 Jan 21;:jia029. doi: 10.1093/infdis/jia029. Epub ahead of print. PMID: 33475730.
- Bayda N, [Tilloy V](#), Chaunavel A, Bahri R, Halabi MA, Feuillard J, Jaccard A, [Ranger-Rogez S](#). Comprehensive Epstein-Barr Virus Transcriptome by RNA-Sequencing in Angioimmunoblastic T Cell Lymphoma (AITL) and Other Lymphomas. *Cancers (Basel)*. 2021 Feb 4;13(4):610. doi: 10.3390/cancers13040610. PMID: 33557089; PMCID: PMC7913808.
- Laurent Papazian*, Samir Jaber, Sami Hraiech, Karine Baumstarck, Sophie Cayot-Constantin, Nadia Aissaoui, Boris Jung, Marc Leone, Bertrand Souweine, Carole Schwebel, Jérémy Bourenne, Jérôme Allardet-Servent, Toufik Kamel, Qin Lu, Christine Zandotti, Anderson Loundou, Christine Penot-Ragon, Jean Chastre16, Jean-Marie Forel and Charles-Edouard Luyt on behalf of the [Preemptive Herpesviridae Treatment Study Group](#), REVA Network. *Ann. Intensive Care* (2021) 11:33. <https://doi.org/10.1186/s13613-020-00793-2>.
- Faure-Bardon V, [Fourgeaud J](#), Stirnemann J, [Leruez-Ville M](#), Ville Y. Secondary prevention of congenital CMV infection with valaciclovir following maternal primary infection in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021 May 16. doi: 10.1002/uog.23685.
- Rolland M, Martin H, Bergamelli M, Sellier Y, Bessières B, Aziza J, Benchoua A, [Leruez-Ville M](#), Gonzalez-Dunia D, Chavanas S. Human cytomegalovirus infection is associated with increased expression of the lissencephaly gene PAFAH1B1 encoding LIS1 in neural stem cells and congenitally infected brains. *J Pathol.* 2021 May;254(1):92-102.
- Faure-Bardon V, [Fourgeaud J](#), [Guilleminot T](#), Magny JF, Salomon LJ, Bernard JP, [Leruez-Ville M](#), Ville Y. First-trimester diagnosis of congenital cytomegalovirus infection after maternal primary infection in early pregnancy: feasibility study of viral genome amplification by PCR on chorionic villi obtained by CVS. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021 Apr;57(4):568-572.
- Chavarot N, Divard G, Scemla A, Amrouche L, Aubert O, [Leruez-Ville M](#), Timsit MO, Tinel C, Zuber J, Legendre C, Anglicheau D, Sberro-Soussan R.. Increased incidence and unusual presentations of CMV disease in kidney transplant recipients after conversion to belatacept. *Am J Transplant.* 2020 Dec 6.
- [Leruez-Ville M](#), Ville Y Secondary prevention of congenital cytomegalovirus infection. *Lancet.* 2020 Sep 12;396(10253):739-741.
- [Leruez-Ville M](#), Ville Y. Is it time for routine prenatal serological screening for congenital cytomegalovirus? *Prenat Diagn.* 2020 Dec;40(13):1671-1680. Review.
- Faure Bardon V, Peytavin G, Lê MP, [Guilleminot T](#), Elefant E, Stirnemann J, [Leruez-Ville M](#), Ville Y. Placental transfer of Letemovir & Maribavir in the ex vivo human cotyledon perfusion model. New perspectives for in utero treatment of congenital cytomegalovirus infection. *PLoS One.* 2020 Apr 30;15(4):e0232140.
- [Leruez-Ville M](#), Ren S, Magny JF, Jacquemard F, Couderc S, Garcia P, Maillotte AM, Benard M, Piquier D, Minodier P, Astruc D, Patural H, Ugolin M, Parat S, Guillois B, Garenne A, Parodi M, Bussièrès L, Stirnemann J, Sonigo P, Millischer AE, Ville Y. Accuracy of prenatal ultrasound screening to identify fetuses infected by cytomegalovirus which will develop severe long-term sequelae. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021 Jan;57(1):97-104.

- [Leruez-Ville M](#), Foulon I, Pass R, Ville Y. Cytomegalovirus infection during pregnancy: state of the science. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Sep;223(3):330-349. Review.
- Sellier Y, Marliot F, Bessières B, Stirnemann J, Encha-Razavi F, [Guilleminot T](#), Haicheur N, Pages F, Ville Y, [Leruez-Ville M](#). Adaptive and Innate Immune Cells in Fetal Human Cytomegalovirus-Infected Brains. *Microorganisms*. 2020 Jan 25;8(2):176.
- [Leruez-Ville M](#), [Guilleminot T](#), Stirnemann J, Salomon LJ, Spaggiari E, Faure-Bardon V, Magny JF, Ville Y. Quantifying the Burden of Congenital Cytomegalovirus Infection With Long-term Sequelae in Subsequent Pregnancies of Women Seronegative at Their First Pregnancy. *Clin Infect Dis*. 2020 Oct 23;71(7):1598-1603.
- Faure-Bardon V, Millischer AE, Deloison B, Sonigo P, Grévent D, Salomon L, Stirnemann J, Nicloux M, Magny JF, [Leruez-Ville M](#), Ville Y Refining the prognosis of fetuses infected with Cytomegalovirus in the first trimester of pregnancy by serial prenatal assessment: a single-centre retrospective study. *BJOG*. 2020 Feb;127(3):355-362.
- [Leruez-Ville M](#), Khalil A, Kagan KO, Donner C, Lazzarotto T, Ville Y. Antenatal screening for cytomegalovirus infection: to know the chance, the chance to know. *Lancet Child Adolesc Health*. 2019 Oct;3(10):675-677.
- [Leruez-Ville M](#), Faure-Bardon V, Magny JF, Parodi M, Ville Y. Reply to Park et al, Muldoon et al, and Périllaud-Dubois et al. *Clin Infect Dis*. 2020 Jan 1;70(1):176-177.
- Frange P, [Leruez-Ville M](#). Caution Is Required before Recommending Wide Use of Letermovir as Salvage Therapy for Cytomegalovirus Diseases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Apr 25;63(5):e00178-19
- Faure-Bardon V, Magny JF, Parodi M, Couderc S, Garcia P, Maillotte AM, Benard M, Pinquier D, Astruc D, Patural H, Pladys P, Parat S, Guillois B, Garenne A, Bussièrès L, [Guilleminot T](#), Stirnemann J, Ghout I, Ville Y, [Leruez-Ville M](#). Sequelae of Congenital Cytomegalovirus Following Maternal Primary Infections Are Limited to Those Acquired in the First Trimester of Pregnancy. *Clin Infect Dis*. 2019 Oct 15;69(9):1526-1532.
- Roy M, Lebeau L, Chessa C, Ladram A, Oury B, [Boutolleau D](#), Bodet C, Lévêque N. Comparison of anti-viral activity of frog skin anti-microbial peptides Temporin-SHa and [K³]SHa to LL-37 and Temporin-Tb against herpes simplex virus type 1. *Viruses* 2019 ; 11 : pii E77.
- Mercier-Darty M, [Boutolleau D](#), Rodriguez C, [Burrel S](#). Added value of ultra-deep sequencing (UDS) approach for detection of genotypic antiviral resistance of herpes simplex virus (HSV). *Antiviral Res* 2019 ; 168 : 128-133.
- Robinet-Perrin A, Tumiotto C, Cornut T, Santoni A, Touboul D, Goupil-Gouyette T, Garrigue I, [Boutolleau D](#), [Burrel S](#). Herpetic keratitis: input of recombinant virus for the identification of novel acyclovir-resistance mutation. *Antiviral Res* 2019 ; 168 : 183-186.
- Luyt CE, Forel JM, Hajage D, Jaber S, Cayot-Constantin S, Rimmelé T, Coupez E, Lu Q, Diallo MH, Penot-Ragon C, Clavel M, Schwebel C, Timsit JF, Bedos JP, Hauw-Berlemont C, Bourenne J, Mayaux J, Lefrant JY, Mira JP, Combes A, Wolff M, Chastre J, Papazian L, for the [Preemptive Herpesviridae Treatment Study Group](#), Réseau Européen de recherche en Ventilation Artificielle (REVA) Network. Acyclovir for mechanically ventilated patients with herpes simplex virus oropharyngeal reactivation: A randomized clinical trial. *JAMA Intern Med* 2019 ; 180 : 263-272.
- Guermouche H, [Burrel S](#), Mercier-Darty M, Kofman T, Rogier O, Pawlotsky JM, [Boutolleau D](#), Rodriguez C. Characterization of the dynamics of human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs by ultra-deep sequencing. *Antiviral Res* 2020 ; 173 : 104647.
- Vetter P, Schibler M, Herrmann JL, [Boutolleau D](#). Diagnostic challenge of central nervous system infection: Extensive multiplex panels versus stepwise guided approach. *Clin Microbiol Infect* 2020 ; 26 : 706-712.
- Foy JP, Bertolus C, [Boutolleau D](#), Agut H, Gessain A, Herceg Z, Saintigny P. Arguments to support a viral origin of oral squamous cell carcinoma in non-smoker and non-drinker patients. *Front Oncol* 2020 ; 10 : 822.
- [Boutolleau D](#), [Burrel S](#). Caution is required for the interpretation of mutations in herpes simplex virus DNA polymerase for resistance to acyclovir. *J Glob Antimicrob Resist* 2020 ; 22 : 695-696.
- Fastenackels S, Bayard C, Larsen M, Magnier P, Bonnafous P, Seddiki N, Appay V, Gautheret-Dejean A, Sauce D. Phenotypic and functional differences between HHV-6 and HCMV specific T-cells. *Journal of Virology*. 2019. pii: JVI.02321-18. doi: 10.1128/JVI.02321-18.
- Bonnafous P, Marlet J, Gaudy-Graffin C, [Gautheret-Dejean A](#). Need for a better characterization of HHV-6 infections and associated clinical impacts. *American Journal of Transplantation*. 2019 ; 19(1) : 304-305. doi: 10.1111/ajt.15013.

- Bonnafous P, Phan TL, Himes R, Eldin K, Gautheret-Dejean A, Prusty BK, Agut H, Munoz FM. Evaluation of liver failure in a Pediatric transplant recipient of a liver allograft with inherited chromosomally integrated HHV-6B (iciHHV-6B). *Journal of Medical Virology*. 2019 Oct 3. doi: 10.1002/jmv.25600
- Vivien Petit, Pascale Bonnafous, Victor Fages, Agnès Gautheret-Dejean, Ilka Engelmann, Agathe Baras, Didier Hober, Romain Gérard, Jean-Baptiste Gibier, Emmanuelle Leteurtre, François Glowacki, Florence Moulounguet, Antoine Decaestecker, François Provôt, Paul Chamley, Emmanuel Faure, Bhupesh K Prusty, Mehdi Maanaoui, Marc Hazzan. Donor-to-recipient transmission and reactivation in a kidney transplant recipient of an inherited chromosomally integrated HHV-6A: Evidence and outcomes. *American Journal of Transplantation*. 2020 Dec 20(12):3667-3672. doi: 10.1111/ajt.16067.

Communications nationales (orales et affichées)

- Alain S, Feghoul L, Girault S, Lepiller Q, Michonneau D, Berceau A, Le Goff J, Hantz S Mécanismes d'échappement au letermovir en prophylaxie à partir de 4 cas. 39e Réunion Interdisciplinaire en Chimiothérapie Anti-infectieuse (RICAI), 2019 (Paris, France). CO n°054.
- Jacquet C, Tsogoeva S, Andouard D, El Hamel C, Chianea T, Marschall M, Hantz S, Alain S Efficacité prometteuse d'un dérivé trimérique de l'artésunate dans des modèles expérimentaux d'infection congénitale à CMV in vitro et ex vivo. 39e Réunion Interdisciplinaire en Chimiothérapie Anti-infectieuse (RICAI), 2019 (Paris, France). CO n°052.
- Coutance G, Boutolleau D, Rouvier P, Nguyen L, Bouglé A, Bréchet N, Leprince P, Varnous S. Impact des infections à CMV sur le risque de rejet d'allogreffe après transplantation cardiaque. 19e Congrès Annuel de la Société Francophone de Transplantation (SFT). Bordeaux, France. 4 - 6 décembre 2019.
- Breillat P, Mathian A, Hie M, Pineton de Chanbrun M, Miyara M, Cohen Aubart F, Boutolleau D, Pha M, Calvez C, Haroche J, Rozenberg F, Burrel S, Amoura Z. La réplication du virus Epstein-Barr est fréquente lors des poussées de lupus systémique. 80e Congrès de la Société Nationale Française de Médecine Interne (SNFMI). Limoges, France. 11 - 13 décembre 2019.
- Coutance G, Boutolleau D, Rouvier P, Nguyen L, Bouglé A, Bréchet N, Leprince P, Varnous S. Cytomegalovirus infections are frequent after heart transplantation but do not increase the risk of biopsy-proven allograft rejection in the modern era. Journées Francophones de l'Insuffisance Cardiaque, des Cardiomyopathies, de l'Assistance et de la Transplantation cardiaque (JFIC-CAT). Rennes, France. 19-20 septembre 2019.
- Boutolleau D, Boivin M, Le Clec'h C, Hourcq I, Burrel S. Evaluation de la trousse HSV1&2 VZV R-GENE® pour la détection et la quantification du génome du virus de la varicelle et du zona (VZV) dans les prélèvements biologiques. 39e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). Paris, France. 16 - 17 décembre 2019.
- Boutolleau D, Boivin M, Le Clec'h C, Hourcq I, Burrel S. Evaluation des trousse HSV1&2 VZV R-GENE® et CELL control R-GENE® pour la quantification du génome du virus herpes simplex 1 (HSV-1) dans les lavages bronchoalvéolaires (LBA). 39e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). Paris, France. 16 - 17 décembre 2019.
- Cheminet M, Burrel S, Boutolleau D. Epidémiologie moléculaire du virus de la varicelle et du zona (VZV). 39e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). Paris, France. 16 - 17 décembre 2019.
- Boutolleau D, Faury H, Payen M, Burrel S, au nom du groupe d'étude français HSV VZV. Etude nationale sur les infections neuroméningées par HSV et VZV. 40e Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI). Paris, France. On-line meeting. 14 - 15 décembre 2020.
- Joanny M, Magnier P, Lazga H, Levu M, Nectoux J, Orhant L, Nguyen-Quoc S, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Mesure de la charge virale du HHV-6 : comparaison qRT-PCR et ddPCR. XXI^{èmes} Journées Francophones de Virologie, Lyon, 28-29 mars 2019.
- Joanny M, Magnier P, Lazga H, Levu M, Nectoux J, Orhant L, Nguyen-Quoc S, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Measuring the viral load of HHV-6: comparison between qRT-PCR and ddPCR. 11th International Conference on HHV-6 and HHV-7, Québec city, 23-26 Juin 2019.

Communications internationales

- Hantz S, Courivaud C, Mayeras M, Ribot E, Alain S. Evaluation of SaMag-12 DNA extractor for partial automation of CMV PCR on DBS. 7th International Congenital CMV Conference. Birmingham. Avril 2019. P1-01.
- Hantz S, Critescu C, Hermellin A, Roquebert B, Najjoulah F, Garin B, Ribot E, Ruta S, Alain S. Diversity of CMV seroprevalence in French metropole, overseas territories and Romania. 7th International Congenital CMV Conference. Birmingham. Avril 2019. P2-01.
- Jacquet C, Tsogoeva S, Andouard D, El Hamel C, Chianea T, Marschall M, Hantz S, Alain S. A highly potent trimeric derivative of artesunate shows promising profiles in experimental models for CMV congenital infection in vitro and ex vivo. 7th International Congenital CMV Conference. Birmingham. Avril 2019. P7-01.
- Andouard D, Gastineau B, Plaut N, Hantz S, Alain S. Impact of letermovir in an *ex vivo* first-trimester placenta model. 7th International Congenital CMV Conference. Birmingham. Avril 2019. P7-02.
- CMV viral load in saliva and in blood over time (birth to 2 years old) in congenitally infected children: the CYMEPEDIA study. M Leruez-Ville, JF Magny, M Parodi, S Couderc, P Garcia, AM Maillotte, M Benard, D Piquier, D Astruc, P Minodier, H Patural, P Pladys, S Parat, B Guillois, A Garenne, L Bussieres, T Guillemot, Y Ville. 7th international Congenital CMV conference and 17th International CMV Workshop. 07-11 April 2019
- Boutolleau D, Roger O, Piot JC, Thévenin M, Mousnier F, Hermet L, Burrel S. Emergence of varicella-zoster virus resistance to acyclovir among both immunocompromised and immunocompetent individuals. 29th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Amsterdam, Pays-Bas. 13 - 16 avril 2019.
- Boutolleau D, Faury H, Payen M, Burrel S, on behalf of the HSV VZV French Study Group. Central nervous system infections caused by herpes simplex virus and varicella-zoster virus in France, 2014-2018: a nationwide retrospective study. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Paris, France. 18 - 21 avril 2020 (*accepté*).
- Coutance G, Boutolleau D, Rouvier P, Nguyen L, Bouglé A, Bréchet N, Leprince P, Varnous S. Cytomegalovirus infections are frequent after heart transplantation but do not increase the risk of biopsy-proven allograft rejection in the modern era. 40th Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). Montréal, Québec, Canada. 22-25 avril 2020 (*accepté*).
- Boutolleau D, Roger O, Piot JC, Thévenin M, Mousnier F, Hermet L, Burrel S. Emergence of varicella-zoster virus (VZV) resistance to acyclovir (ACV) in immunocompetent individuals with VZV-associated keratitis. ASM Microbe 2019. San Francisco, Etats-Unis. 20 - 24 juin 2019.
- Burrel S, Le Clec'h C, Conan F, Brunet C, Moreau G, Aubry A, Boutolleau D, on behalf of the French HSV Study Group. French external quality assessment (EQA) scheme for molecular detection of human herpesviruses (HHVs) in cerebrospinal fluid (CSF) sample. ASM Microbe 2019. San Francisco, Etats-Unis. 20 - 24 juin 2019.
- Burrel S, N'Debi M, demontant V, Mariaggi MA, Friang C, Rodriguez C, Boutolleau D. Cytomegalovirus retinitis: application of a metagenomic deep sequencing approach to investigate the viral replication state and to detect drug resistance mutations. 22nd Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV). Copenhagen, Danemark. 11 - 14 septembre 2019.
- Boutolleau D, Boivin M, Le Clec'h C, Hourcq I, Burrel S. Evaluation of the new HSV1&2 VZV R-GENE® and the CELL control R-GENE® kits for the quantification of herpes simplex virus 1 (HSV-1) genome in bronchoalveolar lavage (BAL) from patients with bronchopneumonitis (BPn). 22nd Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV). Copenhagen, Danemark. 11 - 14 septembre 2019.
- Boutolleau D, Boivin M, Le Clec'h C, Hourcq I, Burrel S. Comparative evaluation of the new HSV1&2 VZV R-GENE® kit and a real-time PCR laboratory-developed test (LDT) for the detection and quantification of varicella-zoster virus (VZV) genome in clinical samples. 22nd Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV). Copenhagen, Danemark. 11 - 14 septembre 2019.

- Solis M, Khiri H, Beby-Defaux A, Gallais F, [Boutolleau D](#), Fafi-Kremer S. Evaluation of the new HSV1&2 VZV R-GENE® kit for HSV-1, HSV-2 and VZV load measurement. 22nd Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV). Copenhagen, Danemark. 11 - 14 septembre 2019.
- [Burrel S](#), Bomme O, Pertrizeard O, Piot JC, Le Labousse B, Hamm N, Chicaud E, [Boutolleau D](#). Validation of Simplexa™ HSV 1 & 2 Direct and Simplexa™ VZV Direct kits for HSV and VZV detection from low-volume cerebrospinal fluid samples. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Paris, France. 18 - 21 avril 2020 (*accepté*).
- Cheminet M, [Burrel S](#), [Boutolleau D](#). Molecular epidemiology of varicella-zoster virus in Pitié-Salpêtrière University Hospital, Paris, France. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Paris, France. 18 - 21 avril 2020 (*accepté*).
- Jary A, Teguede I, Sidibé Y, Kodio A, Dolo O, [Burrel S](#), [Boutolleau D](#), Berçot B, Bébéar C, Sayon S, Kampo M, Traoré FT, Sylla M, Achenbach C, Murphy R, Calvez V, Marcelin AG, Maiga A. HPV, HIV and other sexually transmitted infection prevalence among women attending cervical cancer screening in Sikasso, Mali. 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Paris, France. 18 - 21 avril 2020 (*accepté*).
- Breillat P, Mathian A, [Burrel S](#), Hié M, Fadlallah J, Pineton de Chambrun M, [Boutolleau D](#), Rozenberg F, Calvez V, Amoura Z. Epstein-Barr virus blood replication increases during active systemic lupus erythematosus. Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) 2020. Francfort, Allemagne. 3 - 6 juin 2020 (*accepté*)

Conférences sur invitation

- «Infections maternofoetales à CMV: Quelles recommandations de dépistage? [Alain S](#)» 3^{èmes} Journées Francophones de Biologie médicale Monaco, 6-8 novembre 2019
- « CMV et grossesse, physiopathologie prise en charge, bilan du CNR » [Alain S](#) 16^{ème} Rencontre Rémoise de Diagnostic Anténatal 8 février 2019
- « CMV nouveaux antiviraux » [Alain S](#) Journées Claude Bernard, 26 Novembre 2019, Paris
- « CMV en hématologie » [Alain S](#) Journées francophones d'hématologie, Lyon 18 Octobre 2019
- « Infections maternofoetales à CMV: Quoi de neuf en anténatal? » [Alain S](#) Assises de gynécologie obstétrique, Lille, 29 Novembre 2019.
- "CMV New therapeutics" [Alain S](#) **13th lung transplant international congress**, Paris March 2019
- "What is the burden of Varicella disease in Countries without or before universal varicella vaccination (UVV)" [Alain S](#) **1st VZV international Congress** cancelled in 2020 reported virtual 1st of July 2021.
- Antiviral treatment. [M Leruez-Ville](#). Congenital CMV 2019. From pregnancy to infancy: let's face it. Florence, 21-22 February **2019**
- How to diagnose a non-primary infection? [M Leruez-Ville](#). Congenital CMV 2019. From pregnancy to infancy: let's face it. Florence, 21-22 February **2019**
- Epidémiologie et diagnostic de l'infection congénitale à CMV. [M Leruez-Ville](#). Table Ronde. Journées Nationales de Néonatalogie. 28-29 Mars **2019**.
- Treatment of CMV in pregnant women: is there anything effective? [M Leruez-Ville](#). European pediatrics Society of Infectious Diseases. EPSID. 6-11 May **2019**. Ljubljana
- L'épidémiologie et le diagnostic virologique de l'infection materno-fœtale à cytomégalo-virus. [M Leruez-Ville](#). Séance Thématique. Académie Nationale de Médecine. 1 octobre **2019**
- Sequelae of congenital CMV infection according to timing of maternal infection. **M Leruez-Ville**. 8th European Academy of Pediatrics Society. October 16-19, **2020**
- Antiviral treatment in pregnancy. [M Leruez-Ville](#). European Congenital CMV Initiative ECCI 13-14 November **2020**, Paris
- The high risk group. [M Leruez-Ville](#). European Congenital CMV Initiative ECCI 13-14 November **2020**, Paris
- A plea for maternal primary CMV infection screening in the first trimester. [M Leruez-Ville](#). Society for Maternal Fetal

Medicine SF5M. Round Table. 28 January 2021

- Serological screening in pregnancy. M Leruez-Ville. 3rd World Congress on Maternal Fetal neonatal Medicine. Venice, 25-27 March 2021
- Prevention of congenital CMV: is maternal treatment the solution? M Leruez-Ville European pediatrics Society of Infectious Diseases EPSID 26-28 may 2021.
- Boutolleau D. Présentation du Centre National de Référence (CNR) Herpèsvirus. 8^e Journée Scientifique de l'association Herpèsvirus et pathologies Associées (HerPAs). Lyon, France. 27 mars 2019.
-

Formations médicales continues

- “The value of new tools and trusted recipes in the aetiological diagnosis of encephalitis”. Alain S **ESCMID Post graduate Course**: 3rd course on encephalitis . Grenoble 26-28 Juin 2019
- Infections mère/enfant par HSV et VZV. M Leruez-Ville. Journée scientifique d'information sur les infections par les alphaherpesvirus : virus herpes simples (HSV) et virus de la varicelle et du zona (VZV). Hôpital Pitié-Salpêtrière. Paris 14 Juin 2019.
- Les recommandations sur le dépistage du CMV durant la grossesse : distinguer le vrai du faux. Table ronde 20 février 2020 **Webinar** LEN Medical Axis Santé
- Update on the diagnosis of congenital CMV infection in the neonatal period and beyond. **Webinar** Diasorin “congenital cytomegalovirus updates on screening and diagnostic algorithm”. 19 November 2020
- Challenges in interpreting CMV serology and prognostic markers International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. M Leruez-Ville ISUOG course, 17 may 2021

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux

Le laboratoire CNR a été sollicité à plusieurs reprises pour des avis sur des modèles animaux de CMV ou des Herpès simiens. Et pour des évaluation de méthodes d'inhibition des herpesvirus sur les surfaces, pour limiter la transmission dans les collectivités d'enfants.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 Laboratoire CNR Limoges

1) Infection congénitale à CMV

- Développement d'un test sérologique discriminant réinfection et réactivation pendant la grossesse, essentiel pour identifier les risques liés aux réinfections et traiter ces dernières si nécessaire. Ce projet pourra s'intégrer dans les word package du projet RHU porté par Necker (Cf ci-dessous).

Validation par analyse de la diversité des souches en NGS sur divers prélèvements sanguins et urinaires, le CMV se réactivant plus fréquemment en périphérie que dans le sang.

Ce travail sera basé sur les résultats de diversité virale observés dans la population des enfants en crèche lors du PHRC National CRECHMV mesurant la prévalence du CMV chez les enfants en crèche au niveau National (40% des enfants excrètent du CMV et nous observons près de 10% de coinfections), publiés en 2019 (Alain et al., JPIDS 2019).

2) Surveillance des résistances et identification des facteurs favorisants

Cohorte NaViRe : La surveillance des résistances aux nouveaux antiviraux et aux antiviraux actuels reste une nécessité du fait de la persistance de résistances, de l'existence de cas complexes notamment après belatacept, un puissant immunosuppresseur d'utilisation plus récente et de l'émergence de résistance au letermovir doublée d'une très large utilisation en prophylaxie.

Dans un premier temps, nous réouvrons, en collaboration avec la SFGMTC, (Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire) une cohorte de surveillance des antiviraux anti CMV après allo greffe de cellules souches hématopoïétiques sur 15 centres en France, dont les objectifs sont :

1) **Déterminer l'incidence cumulée et le taux d'incidence des infections à CMV en allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans les deux ans suivant la greffe selon la stratégie antivirale**

2)

-Décrire les modalités d'utilisation des stratégies anti-CMV en vie réelle

- Décrire l'incidence (cumulée et taux d'incidence) et la prévalence des non réponses et des résistances aux antiviraux et leurs facteurs de risque virologique, pharmacologique, immunologiques.

-Décrire la tolérance des anti-CMV bénéficiant d'une AMM en vie réelle

La cohorte a démarré en septembre 2020. A ce jour 20 patients sont inclus dans la cohorte ; Et tous les centres ne sont pas ouverts.

Cohorte BioSUPPORT :

Une cohorte avec biocollection a été mise en place dans le cadre de la Fédération Hospitalière et Universitaire SUPPORT, Tours Poitiers Limoges dédiée à la transplantation d'organes solides, pour permettre l'étude des facteurs d'optimisation de survie des greffons après greffe de rein, foie ou cœur. Elle est coordonnée par S Alain et dans le cadre de cette cohorte est prévue une surveillance des résistances et des facteurs de risque par le laboratoire CNR de Limoges. Les premiers patients ont été inclus en juillet 2021.

3) Site Internet et bases de données

Une attention particulière sera dédiée à la mise en jeu de la base de données interactive des résistances, retardée par la pandémie Covid, et à l'amélioration du site internet, avec remplissage des parties dédiées aux divers virus Herpes.

8.2 Laboratoire associé Necker

1) Amélioration, surveillance et innovation des techniques diagnostiques de l'infection congénitale à CMV

- Réactovigilance sur les techniques sérologiques pour la réalisation de l'avidité des IgG CMV :
 - Nous continuons la surveillance des 2 techniques de mesures de l'avidité les plus utilisées (BioMérieux, Vidas et celle de DiaSorin Liaison XL) (Leruez-Ville M, CID, 2013 ; Sellier Y, JCV, 2015)
 - Evaluation de l'apport du **Recomline CMV IgG and CMV IgG Avidity** (Diasorin) qui sera positionné

comme 3ème technique d'avidité pour les sérums présentant de IgG et IgM positives et des résultats d'avidité discordantes dans les 2 autres techniques

- L'Alinity M a été installé dans le laboratoire en aout 2020, nous avons projeté avec Abbott de faire une expertise sur les marqueurs de PCR CMV salivaire et PCR CMV dans le liquide amniotique et PCR CMV sur sang séché sur buvard lorsque le test de PCR CMV aura le marquage CE soit fin 2021

2) Recherche clinique en lien avec le CNR

CYMEVIE: CONGENITAL CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN VIETNAM: PREVALENCE, MORBIDITY AND RISK FACTORS (Dr Leruez-Ville, responsable scientifique)

Aucune donnée n'est disponible actuellement concernant les infections congénitales à CMV dans la population Vietnamiennne.

L'objectif principal de cette étude est 1) d'estimer la prévalence et la morbidité associées de l'infection congénitale à CMV dans la population Vietnamiennne 2) d'étudier la valeur prédictive positive entre une répllication du CMV chez la mère au 1^{er} trimestre et la survenue d'une infection congénitale et des séquelles associées.

Type d'étude: étude monocentrique au sein Hanoi Obstetrics Gynecology Hospital, Viet Nam.

Population d'étude : femmes enceintes au premier trimestre.

Taille de l'échantillon: 5000 mères/ nouveau-nés.

Un écouvillon salivaire sera prélevé dans les 3 premiers jours de vie pour réaliser la PCR CMV. Des échantillons : sang total, sérum, salive et urine seront prélevés chez la mère au 1^{er} trimestre et au moment de l'accouchement et conservés à -20°C. Des PCR CMV quantitatives seront réalisées dans les prélèvements des mères ayant accouché d'un enfant infecté et dans ceux de 5 femmes témoins ayant accouché d'un enfant non infecté. Les cas et les témoins seront appariés par l'âge (18-25; 25-30; 30-35, >35). Les enfants infectés auront un suivi clinique et audiolgique pendant 2 ans.

Cette étude commence en juin 2021 et devrait durer un an.

CYMEVAL III

Ce protocole a été accepté au PHRC 2018 et a commencé en mai 2021. L'investigateur principal est le Pr Yves Ville, la responsable scientifique est le Dr Marianne Leruez-Ville. Il s'agit d'un essai randomisé, en double aveugle qui inclut des mères présentant un fœtus infecté après infection maternelle du premier trimestre. Dans le bras comparateur, les mères des fœtus infectés seront traitées par 8g/j de valaciclovir, dans l'autre bras elles seront traitées par 240 mg/jour de Letermovir. Le traitement sera instauré du diagnostic de l'infection fœtale jusqu'à la naissance ou l'interruption médicale de grossesse. L'objectif principal est d'obtenir une charge virale négative par PCR CMV dans le sang du cordon ou dans le sang néonatal. L'étude de l'émergence éventuelle de résistance des souches sera faite par le Pr Alain à Limoges.

Développement de tests de diagnostic de l'infection maternelle non-primaire et de test non-invasif de l'infection fœtale

Tous ces projets font partie d'un projet de RHU (PHASIC, Pr Y Ville) qui va être déposé en 2021. Un des work-package de ce projet sera consacré au développement de biomarqueurs (responsable Dr M Leruez-Ville).

- Biomarqueurs de l'infection maternelle secondaire : sérologie de sous type viral en technologie LIPS
- Biomarqueurs non invasifs de l'infection fœtale :
 - Transcriptome maternel
 - Exosome placentaire isolé du sang maternel
 - Mesure des niveaux de co-récepteurs solubles à la transfection virale et à l'expression placentaire

8.3 Laboratoire de la Pitié-Salpêtrière

Nous poursuivons l'étude phylogénétique et phylogéographique des HSV en collaboration avec Sébastien Calvignac-Spencer (Institut Robert Koch, Berlin, Allemagne) et Joel Wertheim (Université de Californie, San Diego, Etats-Unis).

Par ailleurs, nous allons initier la suite de l'étude RetroAlpha 14-18. Il s'agira d'une étude prospective concernant les facteurs Génétiques et Immunitaires des Méningites et des Encéphalites dues aux Alphaherpèsvirus (GIMEA). Cette étude sera réalisée en collaboration avec les équipes de l'Institut des maladies génétiques « Imagine » qui travaillent sur la génétique humaine des maladies infectieuses (prédisposition mendélienne et prédisposition complexe) : Jean-Laurent Casanova, Laurent Abel, Paul Bastard, Emmanuelle Jouanguy et Shen-Ying Zhang.

9 Collaboration avec le laboratoire de virologie du CHU de Grenoble

Les infections à EBV sont parfois complexes à prendre en charge. Et pour compléter ses compétences dans ce domaine, qui ne fait pas expressément partie de ses missions, le CNR fait appel pour les cas les plus complexes au laboratoire de virologie de Grenoble qui a une longue expérience de ces infections et de leur prise en charge. en la personne du Pr P Morand et du Dr Raphaëlle Germe. Il apporte sa contribution aux missions d'aide au diagnostic et de conseil aux cliniciens. Il n'est pas financé par le CNR.

1) Le laboratoire de Grenoble assume une prestation de conseil téléphonique ou par email.

Les personnes qui les contactent sont principalement des médecins cliniciens et des collègues biologistes.

Concernant l'EBV, la prestation de conseil porte le plus souvent sur l'interprétation de résultats de tests sérologiques EBV ou sur la discussion autour de cas graves ou atypiques d'infection à EBV. En 2019-2020 le laboratoire a géré 27 dossiers de prestations de conseil sur l'EBV dont la plupart leurs sont envoyés par le CNR Herpesvirus.

2) il apporte ses compétences pour le typage des infections à EBV (cf liste des analyses disponibles) et les évaluations de techniques ou les développements de nouvelles techniques

- Evaluation des tests EBV VCA IgG, EBV VCA IgM et EBV EBNA IgG du Liaison XL sur une cohorte de patients documentée en statut EBV (établi à partir des tests EBV IgG et IgM Enzygnost, EBNA BMD, du MNI-test, de l'IF anti-VCA IgG, l'IF anti-EBNA IgG, des renseignements cliniques et du suivi sérologique). Nos résultats montrent une concordance globale de 88% avec les interprétations des profils sérologiques résultant des tests Liaison (Tableau 1 et 2).

Tableau 1 : concordance avec les tests Liaison

Statut de référence	LIAISON statut EBV (% concordance)
Primo-infection n= 186	83.9
Infection ancienne n= 164	87.8
Séronégatif n= 157	93.6
Total n=507	88.2

Tableau 2 : détails des profils discordants

Profil EBV de référence	Profil EBV LIAISON					
	EBV seronegatif	Primo-infection	Infection ancienne	VCA IgG isolé	Phase de transition*	indéterminé
Primo-infection n=186	5	NA	2	1	22	0
Infection ancienne n=164	1	1	NA	8	2	8**
Absence d'infection n=157	NA	10	0	0	0	0

*3 marqueurs

**8 EBNA IgG isolés

- Expertise : Dans le cadre de l'activité d'expertise concernant l'EBV, le laboratoire de Grenoble a réalisé en 2019-2020:

- 60 sérologies EBV pour contrôle des résultats d'un laboratoire extérieur (CH, CHU et labo privé). Ceci correspond à environ 1.5% de notre activité de sérologie EBV
- 200 PCR EBV pour des laboratoires extérieurs (CH, CHU et labo privé). Ce qui correspond à environ 3.3% de notre activité de PCR EBV dont 5 sur des LCR pour expertise et prestation de conseil
- 5 sérologies EBV en IF (VCA IgA et EA IgA) pour 3 patients atteint de carcinome du nasopharynx dans le cadre d'un suivi.
- 2 demande de sérologie sur le LCR
- 3 typages d'EBV

- Développement de 2 tests séroneutralisation pour quantifier le titre d'anticorps neutralisants dans les sérums de patients présentant une infection à EBV

Le premier test permet d'évaluer l'entrée d'un virus EBV-GFP (génétiquement modifié pour exprimer la GFP et produit à partir d'une lignée HEK-293 contenant le bacmide EBV-GFP) dans les **cellules B Raji**. L'incubation de la suspension virale avec un sérum de patient (contenant des anticorps neutralisants anti-EBV) neutralise l'infection des cellules Raji par le virus, entraînant une diminution du nombre de cellules Raji fluorescentes quantifié par cytométrie en flux. L'évaluation de la neutralisation par des dilutions en série du sérum permet d'établir un **titre de neutralisation**.

Le second test de neutralisation permettant d'évaluer l'entrée du virus EBV-GFP produit à partir d'une lignée de lymphome de Burkitt, Akata EBV-GFP (BX1) dans les **cellules épithéliales** (lignée SVK-CR2) est en cours de développement.

3) En 2021 le Dr R Germi va mettre en place une surveillance des infections neuroméningées à EBV

Les atteintes neurologiques liées à la primo-infection ou la réactivation de l'EBV sont rares et décrites presque exclusivement par la publication de cas cliniques isolés. Nous sommes en train de réaliser une revue exhaustive de la littérature sur ce sujet et mettre en place une étude nationale pour évaluer la fréquence de détection de l'EBV dans les liquides cérébrospinaux (LCS) et corrélérer la charge virale EBV dans ces LCS à l'évolution clinique des patients. L'étude de faisabilité sera réalisée avec les laboratoires du CNR Herpesvirus. Cette étude pourra ensuite être élargie en collaboration avec le groupe national d'étude des encéphalites infectieuses en France (ENCEIF, Dr M Le Marechal/Pr Jean-Paul Stahl) et aura comme objectif d'émettre des recommandations concernant l'interprétation de la mesure des charges virales EBV dans le LCS.

Publications du laboratoire sur EBV en 2019 et 2020

- Lupo J, Germi R, Lancar R, Algarte-Genin M, Hendel-Chavez H, Taoufik Y, Mounier N, Partisani M, Bonnet F, Meyohas MC, Marchou B, Filippova A, Prevot S, Costagliola D, Morand P, Besson C. Prospective evaluation of blood Epstein-Barr virus DNA load and antibody profile in HIV-related non-Hodgkin lymphomas. AIDS. 2021 May 1;35(6):861-868.
- Lupo J, Germi R, Costagliola D, Morand P, Besson C. Utility of Epstein-Barr Virus Biomarkers in Human Immunodeficiency Virus-related Lymphomas in the Modern Combined Antiretroviral Therapy Era. Clin Infect Dis. 2019 Feb 15;68(5):891-892.

- Lupo J, Germi R, Lancar R, Algarte-Genin M, Hendel-Chavez H, Taoufik Y, Mounier N, Partisani M, Bonnet F, Meyohas MC, Marchou B, Semanova T, Prevot S, Costagliola D, Morand P, Besson C. Epstein-Barr virus biomarkers have no prognostic value in HIV-related Hodgkin lymphoma in the modern combined antiretroviral therapy era. *AIDS*. 2019 May 1;33(6):993-1000.

Communications orales et affichées

- G. Rey, J. Cornillon, C. Lejeune, E. Dagueneu, A. Jentzer, S. Pillet, R. Germi, P. Flandrin-Gresta, D. Laville, P. Sujobert, A. Pouvaret, D. Guyotat, E. Tavernier. EBV : un pouvoir oncogénique redoutable : A propos d'un DLBCL suivi d'une leucémie à plasmocytes chez un allogreffé. Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire, 6 au 8 novembre 2019 à la Cité des Congrès de Nantes
- Anastasiia Filippova¹, Julien Lupo¹, Gauthier Caillard¹, Laurence Grossi¹, Irina Malova², Alban Deroux³, Patrice Morand¹, Laurence Bouillet³, Raphaële Germi¹. Caractérisation de la réactivation des herpesvirus dans la crise d'angioedème. 39eme Ricai 16-17 décembre 2019
- Julien LUPO¹, Raphaële GERMI¹, Rémi LANCAR², Michèle ALGARTE-GENIN², Houria HENDEL-CHAVEZ³, Yassine TAOUFIK⁴, Nicolas MOUNIER⁵, Marialuisa PARTISANI⁶, Fabrice BONNET⁷, Marie-Caroline MEYOHAS⁸, Bruno MARCHOU⁹, Anastasiia FILIPPOVA¹, Sophie PREVOT¹⁰, Dominique COSTAGLIOLA², Patrice MORAND¹, and Caroline BESSON¹¹. Epstein-Barr virus biomarkers in HIV-related non-Hodgkin lymphoma in the modern cART era. 30rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious. Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Poster, Paris, France, 18 - 21 April 2020
- Perret¹, M. Le Maréchal¹, R. Germi¹, D. Maubon¹, O. Epaulard¹. Prognostic value of cytomegalovirus reactivation in non-AIDS and AIDS patients with lung *Pneumocystis jirovecii* infection, ECCMID 2021 9-12 July 2021 Vienna, Austria
- Julien Lupo, Anne-Sophie Wielandts, Patrice Morand, Frans Verduyn-Lunel, Emmanuel Drouet. Prognostic value of the soluble ZEBRA (Zta) protein in transplant patients with PTLD and Graft versus Host Disease (GVHD). 19th International Symposium on Epstein-Barr Virus and associated Diseases, Hokkaido, Japan, 29-30 juillet 2021

chapitres de livres

- Lupo J, Filippova A, Morand P, Germi R. Virus d'Epstein-Barr virus et maladies associées. Encyclopédie Médico-Chirurgicale Maladies Infectieuses 2021 (accepté chez l'éditeur)
- Lupo J, Thiebaut-Bertrand A, Epaulard O, Morand P, Germi R. Virus d'Epstein-Barr et syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation. *Revue francophone des laboratoires*. 2019 Sept-Oct ;515 :26-35.
- Lupo J, Epaulard O, Morand P, Germi R. Le virus d'Epstein-Barr. *Traité de virologie médicale*, 2019

Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

Rappeler ici les informations suivantes (pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature) en les mettant si nécessaire à jour :

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

1. Expertise
<ul style="list-style-type: none">- identifier et caractériser les souches virales par techniques de biologie moléculaire- typer et caractériser les souches de CMV, HSV1 et HSV2 responsables d'infections materno- fœtales et d'infections chez les immunodéprimés ;- développer une expertise sur la résistance des Herpesvirus aux antiviraux et des tests phénotypiques et génotypiques de résistance aux antiviraux et diffuser des méthodes de détection actualisées aux laboratoires demandeurs ;- apporter une aide au diagnostic des infections à CMV, HSV1 et HSV2, assurer notamment la mesure de l'avidité des IgG spécifiques du CMV dans le sérum dans le cadre du diagnostic et de la prise en charge des femmes enceintes, des nouveau-nés et des immunodéprimés ;- évaluer les trousse diagnostiques, mettre en place un contrôle de qualité inter-laboratoire pour le diagnostic moléculaire des infections herpétiques neuro-méningées.
2. Conseil
<ul style="list-style-type: none">- apporter son expertise aux autorités de santé notamment pour les questions relatives au dépistage du CMV chez les femmes enceintes ;- conseiller les cliniciens et les biologistes concernant le diagnostic des infections graves à Herpesvirus ;- contribuer, le cas échéant, à des études épidémiologiques portant sur les Herpesvirus : infections graves liées aux HSV ou au CMV, infections neuro-méningées dues aux autres Herpesvirus (varicelle, HHV- 6, EBV).
3. Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique
<ul style="list-style-type: none">- par la production de connaissances épidémiologiques en France concernant les infections à CMV chez les immunodéprimés et les infections materno-fœtales à Herpesvirus (CMV, HSV1 et HSV2), en particulier par le recensement des infections néonatales liées aux HSV ;- par le suivi de la résistance aux antiviraux des souches isolées chez les immunodéprimés (transplantés et receveurs de cellules souches hématopoïétiques, lymphomes, etc.) ;- en participant au réseau de surveillance européen des génotypes et des résistances aux antiviraux.
4. Contribution à l'alerte
<ul style="list-style-type: none">- pas d'exigences particulières par rapport au cahier des charges général.

Les missions du CNR Herpesvirus sont orientées en priorité sur le CMV et les HSV. Elles correspondent à un élargissement des missions précédemment assurées par le CNR des Cytomégalo virus pour les HSV, et à de nouvelles missions concernant les infections graves, essentiellement neuro-méningées, dues aux autres Herpesvirus. La mission de coordination reste assurée par le laboratoire de virologie du CHU de Limoges.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

1.2.1 Equipe : personnels dévolus dans les activités du CNR et laboratoires associés

Laboratoire CNR Limoges

Stabilisation de l'équipe avec obtention de CDI pour plusieurs techniciens et ingénieurs du CNR.

Modification de la fiche de poste de V Tilloy désormais totalement dédiée à la bioinformatique, au sein de la plateforme de génomique médicale du CHU pour assurer la sécurité des données patients et développer la bioinformatique notamment en microbiologie. Ouverture de la plateforme à des demandes extérieures, notamment d'autres CNRs ou de laboratoires partenaires. Extension des compétences au génome SARS CoV 2 pour répondre à la demande.

Médecins biologistes :

Sophie ALAIN, PU-PH, 0,3 ETP, coordonne le CNR, assure la responsabilité de l'UF de génomique médicale du CHU, Sébastien HANTZ PU-PH 0,2 ETP. Co-directeur du CNR

Ingénieurs :

1 ETP **CDI** financé sur les crédits MIG CNR : Melissa GOMES-MAYERAS

En charge des recherches de résistance des évaluations techniques et du développement des techniques NGS ainsi que de la formation des autres laboratoires. Gère la biothèque du CNR et l'interface avec CRBioLim.

1 ETP **CDI** Ingénieur bioinformaticien en charge de la plate-forme de séquençage VALENTIN TILLOY depuis juillet 2016 financé sur la MIG CNR mais disponible à 0,5 ETP pour le CNR : en charge du développement des techniques de séquençage nouvelle génération avec M Gomes et de la mise en ligne et de l'entretien de la base de données de résistance sur le nouveau site internet.

1,3 ETP Attachés de recherche clinique/Ingénieurs : financés sur les crédits MIG CNR pour gestion des cohortes, bases de données, qualité et CRBioLim

Françoise GARNIER (0,5,ETP CDI), rémunérée par les PHRC Nationaux du Pr ALAIN depuis 2006, financée par la MIG CNR depuis 2017. Surveillance des résistances et bases de données cliniques sur la résistance, enquêtes du CNR en greffe de cellules souches.

Elodie RIBOT (passage de 0,5 à 0,8 ETP **CDI**), Surveillance des infections congénitales à CMV et des infections néonatales à HSV, gestion des bases de données correspondantes, responsable des collections du CNR dans CRBioLim, responsable qualité du CNR.

Arrêt des fonctions de Eliza MUNTEANU (0,5 ETP CDD) en 2018.

Techniciens :

1 ETP Technicien CDD financé sur la MIG CNR Maladies transmissibles : remplacement de J FIAMETTI par Mathieu LAFARGE fin 2018 (puis passage en **CDI**), génotypes de résistance, tests Quantiferon, aide aux évaluations de nouvelles techniques.

Technicien 0,5 ETP CDI financé par l'INSERM : depuis avril 2015, N PLAUT en charge des virus recombinants et de l'entretien des modèles *ex vivo* et *in vivo* en souris SCID. Aide à la mise en œuvre de l'accréditation coté INSERM.

Doctorants : Financés par Inserm et Université de Limoges

2016-2019 Chloé JACQUET : modèles *ex vivo* et *in vivo* d'infection congénitale et tests de nouveaux antiviraux/anticorps.

2019-2021 Clotilde MULLER : étude fonctionnelle du complexe terminase.

2020-2022 Perrine COSTE-MAZEAU : gynécologue, doctorante dans l'équipe poursuivant le travail de C Jacquet et responsable du diagnostic prénatal.

Laboratoire associé Necker

Le laboratoire associé Hôpital Necker-Enfants malades est intégré dans le laboratoire de Microbiologie Clinique de l'Hôpital Necker.

Personnel affecté au CNR

*Médecins biologistes : 0,8 ETP

Dr Marianne Leruez-Ville : Praticien Hospitalier temps plein – Hôpital Necker-Enfants-Malades Assistance Publique de Paris – EHU PACT Université Paris-Descartes, Imagine et qui consacre 30% de son temps au CNR et est entièrement rémunérée par l'hôpital.

Dr Jacques Fourgeaud : AHU depuis novembre 2019 consacre 25% de son temps aux activités du CNR et est entièrement rémunéré par l'hôpital et la faculté.

Dr Hanène Adib : Praticien Hospitalier Attaché qui a 5 vacations financées par les MIG versées à l'hôpital Necker dans le cadre du CNR.

-Technicien : 1 ETP

Mme Tiffany Guillemot occupe le poste rémunéré par le budget propre du CNR depuis septembre 2009 (subvention InvS). Depuis octobre 2017 Melle Guillemot a été recrutée en CDI et est rémunérée sur les dotations MIG versées à l'hôpital Necker. Mme Guillemot consacre 100% de son temps au CNR : réalisation des PCR CMV sur Guthries, sur salive, des sérologies CMV, des expertises de trousse sérologiques CMV ou de biologie moléculaire CMV, récupération et saisies des données de déclaration de cas, biothèque du CNR.

Laboratoire associé Pitié Salpêtrière

Biologistes

Dr David BOUTOLLEAU (MCU-PH) (responsable scientifique du laboratoire associé) : 0,3 ETP

Dr Sonia BURREL (MCU-PH): 0,3 ETP

Techniciens AP-HP : 1,3 ETP

Depuis octobre 2019, Olivier Bomme a été recruté comme technicien temps-plein dévolu aux activités du CNR Herpèsvirus – LA Pitié-Salpêtrière (financé par les crédits MIG CNR)

1.2.2 Locaux et équipements

Le laboratoire coordonnateur du CNR est intégré dans le service de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU de Limoges (414m²), Il est adossé pour la partie recherche à l'équipe de recherche du service labellisée UMR Inserm 1092 en 2011.

Un même bâtiment, le Centre de Biologie et de Recherche en Santé CRBS, regroupe des équipes INSERM et des laboratoires de Biologie, ainsi que le Service Commun de Génomique de l'Université et l'UF de génomique du CHU (une seule structure bipartite). Les locaux du laboratoire de microbiologie (bactériologie, virologie, parasitologie) intégrant ceux du Laboratoire CNR CMV et du Laboratoire associé au CNR Toxoplasmose sont ainsi regroupés, favorisant les échanges.

Ces locaux sont un laboratoire de microbiologie type P2, avec un laboratoire de niveau L3 regroupant trois laboratoires (Virologie, Biotox et mycobactéries) intégré dans le laboratoire P2 et une pièce dédiée aux CNRs.

Equipement du laboratoire utilisé dans le cadre des activités du CNR :

Sérologie :

2 laboratoires

- automates : Alinity (ABBOTT), 1 Vidas (bioMérieux), 1 Liaison XL Diasorin et un automate ETI Max Diasorin

Cultures cellulaires :

2 laboratoires

- postes de sécurité
- containers d'azote liquide dont un réservé à la **souchothèque du CNR**

Biologie moléculaire :

Secteur séparé du reste du laboratoire et organisé selon le circuit classique séparant physiquement les étapes de pré-amplification (1pièce), d'extraction d'ADN (1laboratoire Haute Sécurité) et d'amplification (1pièce) et de post-amplification (3 pièces, pour les électrophorèses, les techniques hybridations, et le séquençage).

Il possède :

- Un poste de sécurité, deux séquenceurs sur gel (Visible genetics-Siemens pour le génotypage VHB et le génotypage de résistance du CMV)
- thermocycleurs, **dont un réservé aux activités du CNR**
- appareils de PCR en temps réel : Light cycler 1.0 (Roche) et 2 Rotor Gene (Qiagen) sur lequel sont effectuées les mesures de charge virales sanguines au cours des infections à CMV, mais aussi EBV, HHV6, BKV...
- Une chaîne d'extraction-amplification Hologic destiné à la mesure des charges virales VIH, VHB, VHC et au diagnostic des infections à *C. trachomatis*, utilisable également comme chaîne d'extraction d'acides nucléiques.
- Des locaux d'extraction spécialisés incluant deux PSM 2 et deux automates Easy-Mag

Espace de stockage des souches et des prélèvements du CNR : 2 pièces congélateurs et 1 local azote, sous alarme

- 2 congélateurs à -80°C réservés à la **Biothèque du CNR**
- 1 congélateur à -30°C réservé à l'**ADN thèque et à la sérothèque du CNR**
- containers d'azote liquide dont un réservé à la **Souchothèque du CNR**

CRB : Les locaux du CRBioLim sont intégrés aux locaux du laboratoire de Virologie pour la collection du CNR. Les congélateurs du laboratoire sont sous surveillance permanente d'un système d'alarme relié à un PC. Un dédoublement des collections de souches et d'échantillons de sang total est en cours, du fait d'un stockage dédié au sous-sol du nouveau bâtiment.

Séquençage classique et NGS :

Le CNR dispose d'un accès continu à l'Unité de séquençage que dirige le Pr S Alain avec les deux ingénieurs E Guerin (CHU) et Valentin Tilloy (Bioinformaticien MIG CNR) : (Matériel commun aux laboratoires du CHU et de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, et des Sciences) tant pour le séquençage classique et depuis fin 2012 pour le séquençage nouvelle génération. L'équipement a évolué avec 3 nouveaux séquenceurs.

Cette unité est localisée au 2eme étage du CBRS côté CHU

- 1 séquenceur ABI monocapillaire dédié au typage moléculaire
- **1 séquenceur 3500 XL Dx 24 capillaires CEIVD en remplacement du 16 capillaires à partir de 2017 pour les analyses génotypiques par méthode Sanger**
- 1 appareil de chromatographie ADN haute performance
- **2 séquenceur S5 (Ion Torrent Life technologies) depuis fin 2018, mis en fonction en 2019.**
- **1 préparateur de Librairies AB Library Builder (Life Technologies) depuis 2015** au sein du laboratoire de virologie, avec une enceinte ADN.
- **1 préparateur de Librairies ouvert Biomek Beckman** depuis décembre 2016.
- 1 séquenceur **long range « minlon »** CNR depuis décembre 2016.
- **2 Miseq Illumina (1 acquis en 2020)**
- 1 PCR Digitale Quant Studio Biorad

!

Laboratoire associé Necker

Le laboratoire associé Hôpital Necker-Enfants malades est intégré dans le laboratoire de Microbiologie Clinique (Bactériologie-Virologie-Parasitologie-Hygiène) de l'Hôpital Necker.

L'ensemble du laboratoire occupe 350 m² utiles incluant des locaux dédiés spécifiquement à la virologie : techniques moléculaires (en respectant les règles strictes de trois pièces séparées pour la réalisation des techniques d'amplification) et cultures virales (dont un local de type L2 en dépression avec sas). La sérologie virale est réalisée depuis septembre 2012 dans le Laboratoire à réponse rapide (LRR) de l'hôpital qui est situé dans les locaux du laboratoire de Biochimie et qui est doté d'une chaîne d'automatisation Abbott, d'un Architect i2000 et d'un Liaison XL. Le plateau technique inclut tout l'équipement nécessaire au fonctionnement d'un laboratoire de Virologie, à savoir :

-Hottes à flux laminaire Biohazard, incubateurs pour culture, microscopes inversés, microscopes UV, système informatique d'acquisition et stockage d'images de microscopie.

-Equipement de sérologie : 2 automates Aliniti i ABBOTT et LIAISON XL Diasorin, 1 Mini-Vidas BioMérieux, des incubateurs, laveurs de microplaques, spectrophotomètres

-Centrifugeuses, ultracentrifugeuses.

- Thermocycleurs, matériel pour électrophorèses.
- Une chaîne de biologie moléculaire BioMérieux : 3 EMag, 1 Estream et 4 thermocycleurs 7500 (Applied Biosystem)
- Deux autres appareils d'extraction des acides nucléiques : 1 MagNaPure Compact (Roche Diagnostic), 1 EasyMag (BioMérieux).
- deux autres appareils de PCR en temps réel : 1 CFX96 Real Time system (BIORAD) un light Cyclers LC480
- Un AlinityM
- Chambres froides, congélateurs (- 30°C et – 80°C)
- Accès continu au service de séquençage de l'Hôpital situé au niveau d'un plateau technique commun équipé d'un séquenceur ABI prism (16 capillaires)
- Accès à un séquenceur haut débit sur la plateforme de l'Hôpital (MiSeq, Illumina)

Laboratoire de la Pitié-Salpêtrière

Le laboratoire de Virologie du Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière a une surface d'environ 1000 m² répartis sur deux étages différents et incluant les locaux dédiés aux différentes activités diagnostiques :

Etage 5 : 1 laboratoire P2 (culture cellulaire), 1 laboratoire P3 (alertes sanitaires), 1 pièce pour la sérologie, 1 pièce pour la biologie moléculaire automatisée (grandes chaînes), 1 pièce pour la biologie moléculaire manuelle/semi-automatisée (extraction / mise en plaque / amplification).

Rez-de-chaussée : étage entièrement dédié à l'activité de séquençage : extraction, préparation des mix, migration et révélation des produits d'amplification, séquençage, alignement et interprétation des séquences.

Equipements du laboratoire de Virologie utilisés dans le cadre des missions du CNR :

- PSM de type 2, étuves à CO₂, microscope inversé, microscope à fluorescence
- Automates de sérologie Liaison XL (DiaSorin) et MiniVidas (BIOMERIEUX)
- Extracteurs d'acides nucléiques : 2 easyMAG (bioMérieux), 1 EMAG (BIOMERIEUX), 1 MagnaPure Compact (Roche Diagnostics), 2 QIASymphony SP (Qiagen)
- Automates pour mise en plaque : 1 ESTREAM (BIOMERIEUX), 2 QIASymphony AS (Qiagen)
- Automates de PCR en temps réel : 4 LC480 (Roche Diagnostics), 4 Rotorgene (Qiagen), 1 ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems)
- Thermocycleurs point final : 4 MasterCycler Epgradient S (Eppendorf), 3 Peqlab (Ozyme), 2 GeneAmp PCR system 9700, 1 Thermal Cycler 2720, et 1 Veriti (Applied Biosystems)
- Cuves à électrophorèse, lecteur de gels Bio-Print TX4 (Vilber Lourmat)
- Séquenceur capillaire ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems)
- Système de **séquençage Gridlon** (Oxford Nanopore)
- Postes informatiques pour alignement et analyse des séquences
- Congélateurs -80°C (conservation des prélèvements biologiques et des souches virales)
- Réfrigérateurs +4°C et congélateurs -20°C (conservation des réactifs)

1.3 Collections de matériel biologique

Laboratoire CNR Limoges

Les collections du CNR sont progressivement intégrées Centre de Ressources Biologiques du CHU de Limoges CRBioLim certifié NF S96-900 (N°140787/1258F) pour pouvoir être cédées ou utilisées à des fins d'évaluation ou de collaboration. Les autres échantillons sont conservés dans la collection biologique du CNR au laboratoire (N°: DC 2008_604). Les échantillons cliniques et souches issues de l'activité du laboratoire sont progressivement intégrées aux collections du CNR puis au CRBioLim. Les souches virales et les échantillons du protocole OrPhaVic et les souches isolées ou reçues pour recherches de résistance conservées au laboratoire Saint Louis sont en cours de transfert vers le CHU de Limoges. La mise à disposition se fait via le CRBioLim par création d'une sous collection et cession. **(Responsable de collection S Alain et gestionnaire E RIBOT)**

Biothèque transférée progressivement vers la collection du CNR au sein du CRBioLim après vérification de non opposition :

- Souches d'HSV, de VZV isolées pour typage ou reçues pour phénotype de résistance antérieures à la création du CRBioLim, qui sont progressivement intégrées à la collection du CNR
- Près de 10000 échantillons de sang totaux de patients transplantés conservés à -80°C depuis 2013

Biothèque spécifique du CNR pouvant être utilisée à des fins d'expertise et conservées dans la collection du CNR au CRB CRBioLim

- 800 sangs totaux CMV positif ou négatifs aliquotés et mis en collection biologique pour les évaluations de trousse de PCR.
- 400 échantillons de sérum adressés pour primo-infection et dont les caractéristiques (IgG et IgM et avidité des IgG) sont connues. Ces sérums sont conservés à -20°C.
- 129 Echantillons de sérums de primo-infection ou de réactivation positifs pour la recherche d'IgM provenant de l'hôpital Charles Nicolle à Tunis reçus en 2009 caractérisés en 2010 pour les glycoprotéines d'enveloppe gB, gH, gN.
- 50 urines de nouveaux-nés positives pour la recherche de CMV par culture
- **1772** salives d'enfants en crèche (PHRC Crech MV) dont 663 positives en PCR CMV et 212 caractérisées pour leur génotype gB, gH et gN.
- 62 échantillons couplés de salive et de sérum prélevés sur volontaires sains, caractérisés pour la recherche du CMV salivaire et des anticorps sériques et salivaires issus du protocole ACMV.
- **1152** prélèvements spécifiques pour recherche de résistance de 2006 à 2016 caractérisés pour la séquence des gènes *UL97* et *UL54* dont 36 également caractérisés pour les glycoprotéines d'enveloppe gB, gH, gN.
- **3618** prélèvements issus de l'Observatoire des résistances 2006-2010
- **6139** prélèvements issus des 402 patients inclus dans ORPhaViC
- **1785** prélèvements de plasma ou de sang total issus du protocole Quantic R+

Souchothèque : Cellules infectées conservées en azote liquide. Et répertoriées au CRB CRBioLim.

Souches de référence : AD169, Towne, Toledo, Davis et Merlin (ATCC), VHLE, TB40E (don de S Chavanas, Toulouse).

33 souches recombinantes HCMC Bacmids, marquées à la GFP, portant des mutations de résistance au ganciclovir, au cidofovir, ou au Foscarnet, au maribavir ou au letermovir ou des polymorphismes.

Un total de 294 isolats cliniques parmi lesquels :

- 70 souches à tropisme endothélial isolées d'urines de nouveau-né atteints d'infection congénitale à CMV provenant du CNR et de laboratoires extérieurs dont 10 caractérisées pour la séquence de leur génome entier par séquençage haut débit sur Ion Proton.
- 16 Souches à tropisme endothélial isolées de liquide amniotique ou de fœtus
- 72 souches à tropisme endothélial isolées essentiellement en 2008 de la salive d'enfants de moins de trois ans (protocole FreChMV)
- 17 souches de patients transplantés caractérisées pour leur phénotype de résistance au ganciclovir, cidofovir et foscarnet dont 6 pour leur sensibilité au maribavir
- Parmi ces souches 41 sont caractérisées pour leur génotype gB, gH et gN (21 souches d'infection congénitale à CMV), 25 pour la séquence des gènes-cible des antiviraux (*UL97*, *UL27*, *UL54*, *UL56*, *UL89*, *UL104*) et le génotype gB

Laboratoire associé Necker

La biothèque du CNR de Necker est intégrée au centre de ressources Biologiques de l'Hôpital Necker Enfants malades Necker (BB-033-00065).

Biothèque spécifique du CNR de Necker constituée de 2006 à 2020

- Souchothèque : cellules MRC5 infectées conservées à -80°C: **298 souches** (3 aliquots par souche) responsables d'infection materno-fœtale isolées de liquide amniotique ou d'urine de nouveau-nés.
- **2208 prélèvements de liquides amniotiques** testés en PCR CMV dont **327 positifs**. Ces prélèvements sont conservés à -80°C.
- **147 prélèvements de sang fœtal total positifs** conservés à -80°C.
- **270 échantillons d'urine PCR CMV positive** conservés à -80°C.

- **15340 échantillons salivaires** obtenus de nouveau-nés et caractérisés en PCR CMV dont environ **840 positifs en PCR CMV**. Ces prélèvements sont conservés à -80°C.
- **1000 échantillons de sérum** obtenus chez des femmes enceintes en primo-infection et dont les caractéristiques (IgG et IgM et avidité des IgG) sont bien répertoriées. Ces sérums sont conservés à -20°C
- **1644 échantillons de sang séché sur carton de Guthrie** caractérisés en PCR CMV : dont 1019 PCR CMV négative provenant de nouveau-nés non infectés et **204 PCR CMV positive** obtenus de nouveau-nés infectés par le CMV. Ces échantillons sont conservés à température ambiante.

Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière

La biothèque du laboratoire de Virologie de la Pitié-Salpêtrière comprend l'ensemble des prélèvements biologiques positifs en PCR HSV et en PCR VZV (depuis 2012) ainsi que l'ensemble des souches de HSV-1, HSV-2 et VZV isolées en culture cellulaire (depuis 2010).

Par ailleurs, dans le cadre de l'étude nationale rétrospective (2014 - 2018), baptisée RetroAlpha 14-18, menée auprès de 49 laboratoires de virologie de France métropolitaine et d'Outre-mer (réseau *French HSV VZV Study Group*) sur les infections neuroméningées dues aux alphaherpèsvirus (HSV et VZV), une biothèque de près de 350 reliquats de prélèvements de LCS positifs en HSV ou en VZV, prélevés dans le cadre du soin médical, a pu être constituée grâce à certains laboratoires du réseau. Leur étude génomique est en cours.

1.4 Démarche qualité du laboratoire

Le Laboratoire de Biologie du CHU de Limoges est accrédité COFRAC depuis 2014. (N°8-2607 Rév 13). La mesure de la charge virale CMV par PCR quantitative sur sang total, la sérologie VIH sur Architect et la mesure de la charge virale VIH sur automate M2000 ont été accréditées en 2016. La portée a été étendue en 2019 à toutes les PCR herpès virus. En 2018 ont été accréditées les analyses quantitatives de charge virale du VIH, VHB, VHC et la détection des *chlamydia* et gonocoques par les techniques de TMA Hologic. **La dernière visite a eu lieu en 2021 avec accréditation des sérologies virales sur Liaison XL (et transfert de méthode sur Alinity) et du Quantiféron™ CMV.** Le laboratoire participe aux contrôles de qualité externes du QCMD (Européen) et du CTCB (Français) ce qui permet de couvrir l'ensemble des activités de virologie et du CNR (charges virales CMV, EBV, HSV, VZV, génotypes HSV, CMV sur plasma, sang total et carton de Guthrie), ainsi qu'à différents contrôles interlaboratoires (**PCR HSV et génotype HSV organisés par le laboratoire associé Pitié Salpêtrière**, charge virale BK virus, etc...).

Par ailleurs, la plate-forme de séquençage Sanger et NGS du CHU de Limoges, à laquelle participe le CNR est également accréditée Cofrac.

Le laboratoire de microbiologie de Necker participe à des contrôles de qualité externe en sérologie (contrôles CTCB, RCPAQAP pour les sérologies CMV dont l'avidité) et en biologie moléculaire (contrôle du QCMD pour tous les marqueurs de biologie moléculaire testés dans le laboratoire et notamment la PCR CMV sur sang total, sur plasma et sur DBS).

Le laboratoire est accrédité pour la biologie moléculaire (technique d'ARN VIH sur plasma depuis 2014 et pour les PCR HBV et HCV depuis 2016, technique de PCR CMV sur sang total depuis 2018). **Le laboratoire est accrédité pour la sérologie virale** (sérologie des hépatites et du VIH depuis septembre 2017 sur l'automate Architect (Abbott), sérologie CMV (IgG, IgM, Avidité des IgG) sur Liaison XL depuis 2018. L'avidité des IgG sur Vidas est accréditée depuis 2019.

Laboratoire de la Pitié-Salpêtrière

Les sérologies Herpèsvirus (HSV, VZV, CMV et EBV) sur LIAISON XL sont accréditées.

Le laboratoire de Virologie de la Pitié-Salpêtrière participe à différents programmes d'évaluation externe de la qualité (EEQ) :

- Sérologies herpèsvirus : contrôles du CTCB et de Biologie Prospective (France)
- Détection/quantification des génomes des herpèsvirus : contrôles du QCMD (Ecosse)
- Résistance génotypique du CMV et des HSV aux antiviraux : contrôles du QCMD (Ecosse)

Par ailleurs, au sein du CNR Herpèsvirus, le laboratoire de la Pitié-Salpêtrière est en charge de l'organisation des échanges interlaboratoires (EIL) pour le contrôle de la qualité concernant la détection/quantification des génomes viraux et la résistance des HSV aux antiviraux. Cela n'a pas été possible dernièrement du fait du surcroît de travail au niveau du laboratoire généré par la pandémie COVID-19.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

2.1.1 CMV

	Laboratoire Coordonnateur	Laboratoire associé Necker	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière
Techniques sérologiques			
Détection des IgG	LIAISON® CMV IgG II (Dia Sorin) Architect (ABBOTT)	LIAISON® CMV IgG II (Dia Sorin) VIDAS® CMV IgG (bioMérieux)	LIAISON® CMV IgG II (Dia Sorin) Architect (ABBOTT)
Mesure de l'avidité des IgG	LIAISON® CMV IgG II Avidity (Dia Sorin) VIDAS® CMV IgG Avidity II (bioMérieux)	LIAISON® CMV IgG II Avidity (Dia Sorin) VIDAS® CMV IgG Avidity II (bioMérieux)	VIDAS® CMV IgG avidity II (BIOMERIEUX)
Détection des IgM sériques	LIAISON® CMV IgM II (Dia Sorin) Alinity IgG CMV (ABBOT)	LIAISON® CMV IgM II (Dia Sorin)	LIAISON® CMV IgM II (Dia Sorin)
Tests immunologiques	Quantiferon CMV (Qiagen/Liaison DiaSorin) Mesure de la réponse immune CD8 spécifique du CMV		
Techniques de biologie moléculaire			
Mesure de la charge virale par PCR temps réel	- CMV-R gene (bioMérieux) - PCR CMV quantitative « maison » en place depuis 2005, utilisée comme deuxième technique en duplex avec PCR albumine (Wagner et al., 2011).	CMV R gene (bioMérieux) -PCR quantitative développée et validée dans le laboratoire depuis 2001 et utilisée en 2 ^{ème} technique si besoin ainsi que pour la PCR sur carton de Guthrie (Leruez-Ville M et al. J Clin Microbiol, 2003 ; Leruez-Ville et al. J Clin Microbiol, 2008)	Artus® CMV QS-RGQ (QIAGEN)
Applications :	<ul style="list-style-type: none"> -Diagnostic pré-natal de l'infection congénitale à CMV (sur échantillon de liquide amniotique ou sang fœtal) -Diagnostic néonatal de l'infection congénitale à CMV (sur échantillon de sang frais, d'urines ou de salive) -Diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV sur échantillon de sang séché sur carte de Guthrie (Vauloup-Fellous, J Clin Microbiol, 2007 ; Leruez-Ville, CID, 2011). -Recherche et quantification du CMV par PCR dans le sang maternel avant amniocentèse - Suivi des charges virales chez les immunodéprimés 		-Suivi des charges virales chez les immunodéprimés
Techniques de culture			
Applications	Isolement et identification des souches de CMV responsables d'infection congénitales à partir des urines du nouveau-né, ou du liquide amniotique		
	Isolement et identification des souches de CMV responsables d'infections chez les transplantés et antivirogramme		Isolement et identification des souches de CMV responsables d'infections chez les transplantés et antivirogramme

Génotypes de résistance et marqueurs épidémiologiques permettant le typage des souches, l'identification de clusters et l'identification des souches transmises lors de cas groupés

<i>Marqueurs</i>	<i>Laboratoire coordonnateur</i>	<i>Laboratoire associé Necker-Enfants-malades</i>	<i>Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière</i>
Génotype gB Génotype gH Génotype gN Génotype <i>UL144</i> Analyse des microsatellites Analyse du profil UL10-11-12-13 Polymorphisme des séquences de jonction « a »	+ ^h + ^h + ^h + + +	+ + + +	
Génotypage de résistance au ganciclovir, cidofovir foscarnet (UL97-UL54) maribavir (UL97-UL27), letermovir (UL56-UL89).	<i>Séquençage Sanger sur 3500xl Dx genetic analyzer (CEIVD)</i> <i>UL97, UL54^{a,b}</i> <i>UL27^c</i> <i>UL56, UL89^{d,e}, UL51, UL52</i>		<i>Séquençage Sanger sur ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer</i> <i>UL97, UL54^f</i> <i>UL56 et UL89^g</i>

Caractères gras : méthodes accréditées Cofrac

Méthodes publiées : a : Alain et al, Virmet 2004 ; b : Hantz et al., JAC 2010 ; c : Hantz et al., Antiviral Ther. 2009 ; d,e : Champier et al., Antivir Ther. 2007, Champier et al., Antivir Ther. 2008 ; f : Boutolleau et al., Antiviral Res, 2009 ; Boutolleau et al., Antiviral res, 2011 ; g : Pilorgé et al., Antiviral Res, 2014 ; h : Grosjean et al. J clin Virol. 2014.

2.1.2 HSV

Techniques	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière	Laboratoire coordonnateur Limoges
Détection semi-quantitative des IgG HSV-1 et HSV-2 Détection semi-quantitative des IgM HSV-1 et HSV-2 Détection semi-quantitative des IgG spécifiques HSV-1 Détection semi-quantitative des IgG spécifiques HSV-2	Liaison® XL HSV-1/2 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-1/2 IgM (DiaSorin) Liaison® XL HSV-1 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-2 IgG (DiaSorin)	Liaison® XL HSV-1/2 IgG (DiaSorin) Liaison® XL HSV-1/2 IgM (DiaSorin)
Applications	<ul style="list-style-type: none"> - Détermination du statut sérologique vis-à-vis des HSV-1 et HSV-2 - Diagnostic de primo-infection HSV-1/HSV-2 - Diagnostic d'infection récurrente HSV-1/ HSV-2 - Diagnostic sérologique de la primo-infection maternelle /néonatale HSV - Détermination du statut sérologique vis-à-vis du VZV 	
Diagnostic virologique direct : PCR, culture cellulaire		
Détection et quantification du génome des HSV-1 et HSV-2	Simplexa HSV-1/2 (Focus) (urgence) artus HSV-1/2 QS-RGQ (Qiagen) (routine) Quantification du HSV dans les LBA par une méthode maison ^a	HSV 1/2 Smart Cycler (Cepheid)/Multiplex HSV/VZV (Altona)
Applications	<ul style="list-style-type: none"> - Diagnostic rapide des infections à HSV sur liquide céphalo-rachidien, humeur aqueuse (HA) ou vitrée, prélèvements génitaux des femmes en salle de travail, prélèvements de nouveau-né - Diagnostic des infections actives à HSV-1 ou HSV-2 	

	- Quantification de la charge virale HSV dans les liquides de lavage broncho-alvéolaire (LBA) : intérêt pour la prise en charge thérapeutiques des patients intubés-ventilés (Luyt et al., <i>Am J Resp Crit Care Med</i> , 2007) - Quantification de la charge virale HSV dans le LCR ou HA pour suivi thérapeutique	
Isolément des souches de HSV en culture cellulaire	Isolément des souches virales en culture de cellules Vero et fibroblastes embryonnaires humains (MRC-5) Typage HSV-1/2 par immunofluorescence	Isolément des souches virales en culture de fibroblastes embryonnaires humains (MRC5) Typage HSV-1/2 par immunofluorescence
Applications	- Isolément des souches cliniques de HSV-1 et HSV-2 à partir de prélèvements biologiques positifs en PCR : prélèvements cutanéomuqueux, prélèvements génitaux, prélèvements respiratoires (LBA), liquides de ponction - Analyse phénotypique	

a : Burrel et al., *J Virol Methods*, 2012

Génotypage de résistance

Techniques	Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière	Laboratoire coordonnateur Limoges
Diagnostic de la résistance aux antiviraux		
Méthode génotypique	Séquençage Sanger sur ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer	
Séquençage Sanger	gènes UL23 et UL30 ^b gènes UL5 et UL52 ^c	Séquençage Sanger sur 3500xl Dx genetic analyzer (CEIVD) gènes UL23 et UL30 ^b
NGS	MiSeq Sequencing System (ILLUMINA)	Génome entier : Proton system (Ion Torrent)
Méthode phénotypique	Détermination de la résistance à l'aciclovir et au foscarnet par méthode de réduction du nombre de plages de lyse (antivirogramme)	Détermination de la résistance à l'aciclovir et au foscarnet par méthode de réduction du nombre de plages de lyse (antivirogramme)
Applications	- Identification des souches de HSV-1 et HSV-2 responsables d'infections résistantes aux antiviraux	

b : Burrel et al., *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, ^cCollot et al., *Antiviral Res*, 2016

En gras, techniques Accréditées Cofrac

Ces différentes techniques diagnostiques sont évaluées par des contrôles externes de qualité dispensés par des organismes (QCMD, CTCB, ANSM) ou échangés entre laboratoires (EIL) au niveau national ou européen.

Liste des marqueurs épidémiologiques disponibles permettant le typage et l'identification de souches

Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière	Laboratoire coordonnateur Limoges
Séquençage de gènes : UL23 (TK) [HSV-1/2] UL30 (ADN polymérase) [HSV-1/2] UL5 (hélicase) [HSV-1/2] UL30 (primase) [HSV-1/2] UL42 (facteur de processivité) [HSV-1/2] ^d US4 (gG) [HSV-2] ^e US6 (gD) [HSV-2] ^e UL1 (gL) [HSV-2] ^e UL22 (gH) [HSV-2] ^e UL27 (gB) [HSV-2] ^e Séquençage du génome entier [HSV-1/2] ^f Polymorphisme des microsatellites du HSV-1 et du HSV-2 (analyse de longueur de fragments) ^g Identification du HSV-2 ancestral (HSV-2 variant : HSV-2v) ^h	Polymorphisme des gènes (Séquençage Sanger sur 3500xl Dx genetic analyzer (CEIVD)) : <ul style="list-style-type: none"> ▪ UL23 (TK) [HSV-1/2] ▪ UL30 (ADN polymérase) [HSV-1/2] Séquençage du génome entier sur isolat (NGS Ion Torrent technologie)

^dBurrel et al., *Antiviral Res*, 2012 ; ^eBurrel et al., *J Virol*, 2015 ; ^fBurrel et al., *Mol Biol Evol*, 2017 ; ^gDeback et al., *J Clin Microbiol*, 2009 ; Burrel et al., *J Clin Microbiol*, 2013 ; ^hBurrel et al., *Mol Biol Evol*, 2017

2.1.3 VZV

Méthode Diagnostique	Laboratoire associé Pitié salpêtrière	Laboratoire Coordonnateur Limoges
Sérologique	LIAISON® VZV IgG (DIASORIN) LIAISON® VZV IgM (DIASORIN)	LIAISON® VZV IgG (DIASORIN) LIAISON® VZV IgM (DIASORIN)
PCR qualitative (PCR en temps réel)	Simplexa® VZV Direct Kit (DIASORIN)	Multiplex HSV/VZV (Altona)
Charge virale (PCR en temps réel)	Quantification du VZV par une méthode maison ^a	
Culture cellulaire	Isolement des souches virales en culture de cellules Vero et MRC5 Antivirogramme (aciclovir et foscarnet) ^b	Isolement des souches virales en culture de cellules MRC5
Résistance génotypique aux antiviraux	Séquençage des ORF28 et ORF36 ^b → ABI PRISM 3730 Genetic Analyzer (APPLIED BIOSYSTEMS) → MiSeq Sequencing System (ILLUMINA) Séquençage des ORF55 et ORF6 pour la recherche de résistance à l'aménamévir et au pritélétivir (nouveaux antiviraux inhibiteurs du complexe HP)	Séquençage des ORF28 et ORF36 ^b Séquençage Sanger sur 3500xl Dx genetic analyzer (CEIVD)
Marqueurs épidémiologiques (polymorphisme génétique)	Caractérisation des souches de VZV : souche vaccinale/sauvage - PCR en temps réel différentielle ciblée sur l'ORF62 - Identification de 3 SNPs dans les ORF62 et ORF38 Génotypage des souches de VZV : identification des clades Identifications de SNPs dans les ORF1, ORF21, ORF22, ORF38, ORF50, ORF54 ^c	Différenciation souches vaccinales souches sauvages : Séquence ORF 64 RFLP-typage Identification de souches : Séquence génome entier sur souche (Ion Proton)

^aBurrel et al., J Virol Methods, 2012

^bPerrier et al., J Virol Methods, 2016

^cd'après Quinlivan et al., J Clin Microbiol, 2012

2.1.4 génotypage des autres Herpesvirus HHV6, EBV à visée épidémiologique

Laboratoire associé Pitié-Salpêtrière (A Gautheret-Dejean)	Laboratoire coordonnateur Limoges (S Rogez)
<ul style="list-style-type: none"> • HHV-6 : Typage des variants A et B par PCR-séquence Identification des génomes intégrés 	<ul style="list-style-type: none"> • HHV-6^a : Typage des variants A et B par PCR-séquence Identification des génomes intégrés
Laboratoire Support EBV (P Morand, R Germi)	Laboratoire coordonnateur (S Rogez)
EBV : Typage des variants par PCR-séquence	EBV : séquence de génome complet par capture ^b (Illumina)

^a Boutolleau et al. J clin Virol. 2006

^b Bayda N, Tilloy V et al. 2021

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Pour le diagnostic pas de recommandations particulières en 2020. Les différentes évaluations des techniques par le CNR sont disponibles sur le site internet du CNR.

Pour les techniques plus spécifiques (Cf liste des techniques proposées par le CNR)

Recommandation pour les génotypes de résistance : séquence des gènes impliqués dans leur totalité, éviter les séquences partielles en raison du nombre de mutations et de leur répartition potentielle sur la totalité du gène, associer un Quantiféron CMV.

Annexe : Informations complémentaires évolution des Réseaux de surveillance

Réseau de partenaires pour la déclaration en ligne des cas d'infection congénitale à CMV (plateforme Voozanoo) au 31/12/2020

Date de creation de l'accès	Centre	Spécialité	Nom	Prénom
22/11/2016	PARIS	Autre spécialité	Teissier	Natacha
09/12/2016	MARSEILLE	Biologie	Zandotti	Christine
19/12/2016	BORDEAUX	Biologie	Garrigue	Isabelle
23/12/2016	LIMOGES	Biologie	HANTZ	Sébastien
23/12/2016	LIMOGES	Biologie	ALAIN	Sophie
10/02/2017	PARIS	Pédiatrie	Fétiveau	Benoît
13/02/2017	OUTRE MER	Obstétrique	Jolivet	Eugénie
13/02/2017	MONTPELLIER	Biologie	Foulongne	Vincent
13/02/2017	NICE	Obstétrique	Trastour	Cynthia
13/02/2017	NIMES	Obstétrique	Mousty	Eve
13/02/2017	SAINT-ETIENNE	Biologie	Pillet	Sylvie
17/02/2017	AVIGNON	Biologie	Pesenti	Delphine
17/02/2017	METZ	Obstétrique	Oliéric	Marie-France
17/02/2017	METZ	Obstétrique	Welter	Eric
17/02/2017	METZ	Obstétrique	Moza	Anca
09/03/2017	GRENOBLE	Biologie	Lupo	Julien
21/03/2017	LYON	Biologie	Jacomo	Véronique
23/03/2017	BREST	Obstétrique	Saliou	Anne-Hélène
23/03/2017	CAEN	Obstétrique	BENOIST	Guillaume
23/03/2017	NIMES	Biologie	Carles	Marie-Josée
23/03/2017	PARIS	Biologie	BOUTOLLEAU	David
23/03/2017	POITIERS	Obstétrique	VEQUEAU-GOUA	Valérie
27/03/2017	AMIENS	Biologie	Ségard	Christine
27/03/2017	LILLE	Biologie	Dewilde	Anny
27/03/2017	TOURS	Biologie	Gaudy-Graffin	Catherine
30/03/2017	RENNES	Obstétrique	Le Bouar	Gwenaelle
12/05/2017	LIMOGES	Obstétrique	COSTE-MAZEAU	Perrine
12/05/2017	NANTES	Biologie	BRESSOLLETTE	Céline
09/06/2017	CLERMONT-FERRAND	Biologie	Regagnon	Christel
09/06/2017	CLERMONT-FERRAND	Obstétrique	LAURICHESSE	Hélène
09/06/2017	NANTES	Biologie	Banaszkiewicz	Nathalie
16/06/2017	PARIS	Biologie	Leruez	Marianne
10/07/2017	PARIS	Obstétrique	PICONE	Olivier
10/07/2017	PARIS	Biologie	VAULOUP-FELLOUS	Christelle
17/08/2017	POITIERS	Biologie	Beby-Defaux	Agnès
18/08/2017	AUTRES	Biologie	Vestergaard	Hanne Thang
21/09/2017	NICE	Biologie	CANNAVO	Isabelle
02/10/2017	TOURS	Obstétrique	Perrotin	Franck

03/10/2017	CLERMONT-FERRAND	Obstétrique	GALLOT	Denis
03/10/2017	GRENOBLE	Obstétrique	Equy	Véronique
05/10/2017	GRENOBLE	Autre spécialité	Troussier	Joelle
12/10/2017	GRENOBLE	Pédiatrie	Epiard	Chloé
12/10/2017	MONTPELLIER	Pédiatrie	VIGUE	Marie Gabrielle
18/01/2018	LILLE	Biologie	LAZREK	Mouna
29/01/2018	BESANCON	Biologie	Lepiller	Quentin
29/01/2018	NANCY	Biologie	VENARD	Véronique
29/01/2018	PARIS	Biologie	Houhou	Nadira
30/01/2018	BORDEAUX	Biologie	LAFON	Marie-Edith
02/02/2018	OUTRE MER	Biologie	Gourinat	Ann-Claire
05/02/2018	NANTES	Biologie	COSTE-BUREL	Marianne
06/02/2018	CAEN	Biologie	GOUARIN	Stéphanie
06/02/2018	NANTES	Obstétrique	LE VAILLANT	Claudine
13/02/2018	RENNES	Biologie	LAGATHU	Gisèle
19/02/2018	STRASBOURG	Biologie	SOLIS	Morgane
26/02/2018	LYON	Obstétrique	HUISSOUD	Cyril
02/03/2018	NANCY	Obstétrique	MASIAS	Charlotte
12/03/2018	LE MANS	Obstétrique	CHEVE	Marie-Thérèse
13/03/2018	NICE	Pédiatrie	Marioli	Sandrine
06/04/2018	PARIS	Biologie	VERDURME	Laura
16/04/2018	TOULOUSE	Biologie	Pasquier	Christophe
27/04/2018	PARIS	Pédiatrie	MILLONES GONZALES	Marco
19/06/2018	OUTRE MER	Biologie	NAJIOULLAH	Fatiha
19/06/2018	OUTRE MER	Pédiatrie	KETTERER- MARTINON	Sophie
23/07/2018	PARIS	Obstétrique	BENACHI	Alexandra
07/08/2018	BESANCON	Obstétrique	MOTTET	Nicolas
16/08/2018	LIMOGES	Autre spécialité	LERAT	Justine
07/09/2018	POITIERS	Biologie	Lévêque	Nicolas
15/11/2018	MARSEILLE	Pédiatrie	Minodier	Philippe
15/11/2018	SAINT-FLOUR	Obstétrique	VLADIMIROV	Vladimir
18/12/2018	BORDEAUX	Pédiatrie	BRISAUD	Olivier
12/02/2019	BELFORT	Obstétrique	Lebeaupin	René
25/02/2019	DIJON	Biologie	AUVRAY	Chrsitelle
25/02/2019	ORLEANS	Pédiatrie	KIRECHE	Bérengère
25/02/2019	OUTRE MER	Pédiatrie	BOUMAHNI	Brahim
28/02/2019	NANCY	Obstétrique	PERDRIOLLE-GALET	Estelle
04/03/2019	DIJON	Obstétrique	ROUSSEAU	Thierry
05/03/2019	ORLEANS	Biologie	GUINARD	Jérôme
07/03/2019	BORDEAUX	Pédiatrie	Bertrand	Clotilde
14/03/2019	PARIS	Biologie	Marque Juillet	Stéphanie
15/03/2019	LENS	Obstétrique	VALAT	Anne Sylvie
18/03/2019	OUTRE MER	Pédiatrie	CASTELLA	Clément
19/03/2019	TOURS	Biologie	MARLET	Julien
25/03/2019	BORDEAUX	Obstétrique	COICAUD	Marianne

29/04/2019	ROUEN	Biologie	BARON	Adeline
03/06/2019	NICE	Pédiatrie	MAILLOTTE	Anne-Marie
24/06/2019	BESANCON	Obstétrique	HENault	Sophie
24/06/2019	BESANCON	Biologie	MOTTET	Nicolas
28/06/2019	LYON	Pédiatrie	PICAUD	Jean-Charles
14/08/2019	BREST	Biologie	PILORGE	Léa
14/08/2019	MARSEILLE	Pédiatrie	GARCIA	Patricia
10/12/2019	BAYONNE	Obstétrique	LEVRIER	Sophie
10/12/2019	LENS	Obstétrique	DEMEYERE	Mathilde
12/12/2019	REIMS	Biologie	ANDREOLETTI	Laurent
13/01/2020	PARIS	Obstétrique	FRANCHINARD	Loriane
13/01/2020	PARIS	Obstétrique	DARRAS	Anne-Marie
13/01/2020	TOULOUSE	Pédiatrie	BENARD	Melinda
14/01/2020	LYON	Biologie	DELAYER	Delphine
16/01/2020	LYON	Pédiatrie	LABAUNE	Jean-Marc
16/01/2020	LYON	Obstétrique	FICHEZ	Axel
22/01/2020	PARIS	Pédiatrie	KIEFFER	François
24/02/2020	PARIS	Biologie	FAIBIS	Frederic
24/02/2020	PARIS	Biologie	BACHOUR	Bassel

Réseau de partenaires pour le recueil de déclarations et de souches pour les infections materno-fœtales en 2019 et 2020

Grand-Est :

NANCY:

CPDPN :

MOREL Olivier (olivier.morel@chru-nancy.fr)

PERDRIOLLE-GALLET Estelle (e.perdriolle-galet@chru-nancy.fr)

LAMBERT (l.lambert@chru-nancy.fr)

VIROLOGIE:

BERGER Sibel (s.berger@chu-nancy.fr)

SCHVOERER Evelyne (e.schvoerer@chu-nancy.fr)

VENARD Véronique (v.venard@chru-nancy.fr)

OBSTETRIQUE :

MASIAS Charlotte (c.masias@chru-nancy.fr)

PERDRIOLLE-GALLET Estelle (e.perdriolle-galet@chru-nancy.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

HAMON Isabelle (i.hamon@chru-nancy.fr)

STRASBOURG :

CPDPN :

FAVRE Romain (romain.favre@chru-strasbourg.fr)

VIROLOGIE :

FAFI-KREMER Samira (samira.fafi-kremer@chru-strasbourg.fr)

KACK KACK Wallys (wallys.kack-kack@chru-strasbourg.fr)

SOLIS Morgane (morgane.solis@chru-strasbourg.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

ASTRUC Dominique (dominique.astruc@chru-strasbourg.fr)

REIMS :

CPDPN :

BORY Jean-Paul (jpbery@chu-reims.fr)

VIROLOGIE :

ANDREOLLETTI Laurent (landreoletti@chu-reims.fr)BRODARD Véronique (vbrodard@chu-reims.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

BEDNAREK WEIRAUCH Nathalie (nbednarek@chu-reims.fr)**METZ :**

VIROLOGIE :

GAILLAT Jacques

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

Mercy : PINAUD Patrick (p.pinaud@chr-metz-thionville.fr)Bel air : FELDMANN Marc (m.feldmann@chr-metz-thionville.fr)

OBSTETRIQUE :

OLIERIC Marie-France (mf.olieric@chr-metz-thionville.fr)WELTER Eric (e.welter@chr-metz-thionville.fr)MOZA Anca (a.moza@chr-metz-thionville.fr)**BELFORT :**

OBSTETRIQUE :

LEBEAUPIN René (rene.lebeaupin@hnfc.fr)

Normandie :

ROUEN :

CPDPN :

DIGUET Alain (alain.diguet@chu-rouen.fr)VERSPYCK Eric (eric.verspyck@chu-rouen.fr)

VIROLOGIE:

BARON Adeline (adeline.baron@chu-rouen.fr)GUEUDIN Marie (marie.gueudin@chu-rouen.fr)MOUREZ Thomas (thomas.mourez@chu-rouen.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

PINQUIER Didier (didier.pinquier@chu-rouen.fr)**CAEN :**

CPDPN :

DREYFUS Michel (dreyfus-m@chu-caen.fr)BENOIST Guillaume (benoist-gu@chu-caen.fr)

VIROLOGIE :

GOUARIN Stéphanie (gouarin-s@chu-caen.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

TRENTESAUX Anne-Sophie (trentesaux-as@chu-caen.fr)

Bourgogne-Franche-Comté :

DIJON :

CPDPN :

ROUSSEAU Thierry (thierry.rousseau@chu-dijon.fr)SAGOT Paul (paul.sagot@chu-dijon.fr)

VIROLOGIE :

DE ROUGEMEONT Alexis (alexis.de-rougemont@chu-dijon.fr)

BOUR Jean-Baptiste

AUVRAY Christelle (christelle.auvray@chu-dijon.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

SEMAMA Denis (denis.semama@chu-dijon.fr)**BESANCON :**

CPDPN :

MARTIN Alain (amartin@chu-besancon.fr)
VIROLOGIE :
HERBEIN Georges (gherbein@chu-besancon.fr)
LEPILLER Quentin (q1lepiller@chu-besancon.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
THIRIEZ Gerard (rea-infantile@chu-besancon.fr)
OBSTETRIQUE
MOTTET Nicolas (ncmottet@gmail.com)
HENault Sophie (shenault@chu-besancon.fr)

Bretagne :

RENNES :

CPDPN :
LE BOUAR Gwenaelle (Gwenaelle.Le.Bouar@chu-rennes.fr)
ODENT Sylvie (sylvie.odent@chu-rennes.fr)
VIROLOGIE :
PRONIER Charlotte (Charlotte.PRONIER@chu-rennes.fr)
LAGATHU Gisèle (Gisele.LAGATHU@chu-rennes.fr)
THIBault Vincent (Vincent.THIBault@chu-rennes.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
SAURET Anne (anne.sauret@chu-rennes.fr)

BREST :

CPDPN :
SALIOU Anne-Hélène (anne-helene.saliou@chu-brest.fr)
AUDEBERT Séverine (everine.audebert@chu-brest.fr)
De VRIES Philine (philine.devries@chu-brest.fr)
VIROLOGIE :
PAYAN Christopher (christopher.payan@chu-brest.fr)
PILORGE Léa (lea.pilorge@chu-brest.fr)
VALLET Sophie (sophie.vallet@chu-brest.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
GAGNEUR Arnaud (arnaud.gagneur@chu-brest.fr)

SAINT BRIEUC :

CPDPN :
GREBILLE Anne-Gaëlle (anne-gaëlle.grebille@ch-stbrieuc.fr)

Centre-Val-de-Loire :

TOURS :

CPDPN :
ARLICOT Carine (C.ARLICOT@chu-tours.fr)
PERROTIN Franck (franck.perrotin@med.univ-tours.fr)
VIROLOGIE :
BARIN Francis (francis.barin@univ-tours.fr)
BATY Gaëlle (g.baty@chu-tours.fr)
BOIREAU S (s.boireau@chu-tours.fr)
GAUDY-GRAFFIN Catherine (gaudy_c@med.univ-tours.fr)
MARLET Julien (j.marlet@chu-tours.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
SAILLANT Dominique (d.saillant@chu-tours.fr)

ORLEANS:

CPDPN:
ABIMELECH Martine (martine.abimelech@chr-orleans.fr)
VIROLOGIE:
GUIGON Aurélie (aurelie.guigon@chr-orleans.fr)
GUINARD Jérôme (jerome.guinard@chr-orleans.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

WERNER Evelyne (evelyne.werner@chr-orleans.fr)
KIRECHE Bérengère (berengere.kireche@chr-orleans.fr)

Occitanie :

MONTPELLIER :

CPDPN :

FLANDRIN Anaïa (a-flandrin@chu-montpellier.fr)

VIROLOGIE :

FOULONGNE Vincent (v-foulongne@chu-montpellier.fr)

SEGONDY Michel (m-segondy@chu-montpellier.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

CAMBONIE Gilles (g-cambonie@chu-montpellier.fr)

VIGUÉ Marie-Gabrielle (mg-vigue@chu-montpellier.fr)

NIMES :

CPDPN :

MARES Pierre (pierre.mares@chu-nimes.fr)

MOUSTY Eve (eve.mousty@chu-nimes.fr)

VIROLOGIE:

ALLARDET-SERVENT (Annick <annick.allardet.servent@chu-nimes.fr>)

CARLES Marie José (marie.josee.carles@chu-nimes.fr)

CHARACHON Sylvie (sylvie.charachon@chu-nimes.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

TRAN Tu Anh (tu.anh.tran@chu-nimes.fr)

TOULOUSE :

CPDPN :

VAYSSIERE Christophe (christophe.vayssiere@gmail.com)

VIROLOGIE :

MANSUY Jean Michel (mansuy.jm@chu-toulouse.fr)

MENGELLE Catherine (mengelle.c@chu-toulouse.fr)

IZOPET Jacques (izopet.j@chu-toulouse.fr)

PASQUIER Christophe (pasquier.c@chu-toulouse.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

GLORIEUX Isabelle (glorieux.i@chu-toulouse.fr)

BENARD Melinda (benard.melinda@chu-toulouse.fr)

Ile-de-France :

APHP :

CPDPN :

PICONE Olivier (olivier.picone@aphp.fr)

OURY Jean-François (jean-francois.oury@rdb.aphp.fr)

MULLER Françoise (francoise.muller@rdb.aphp.fr)

VILLE Yves (yves.ville@aphp.fr)

ROTH Philippe (philippe.roth@aphp.fr)

DPN Necker Secrétariat: (dpn.necker@aphp.fr)

TSATSARIS Vassilis (vassilis.tsatsaris@cch.aphp.fr)

ANSELEM Olivia (olivia.anselem@cch.aphp.fr)

JOUANNIC Jean-Marie (jean-marie.jouannic@trs.aphp.fr)

BENIFLA Jean-Louis (jl.benifla@trs.aphp.fr)

JACQUEMARD François (jaquemard@gmail.com)

CARBILLON Lionel (lionel.carbillon@jvr.aphp.fr)

BENACHI Alexandra (alexandra.benachi@abc.aphp.fr)

SENAT Marie-Victoire (marie-victoire.senat@bct.aphp.fr)

MAUNIER Sophie (sophie.maunier@bct.aphp.fr)

MARQUE JUILLET Stéphanie (smarquejuillet@ch-versailles.fr)

FRANCHINARD Loriane (loriane.franchinard@aphp.fr)

DARRAS Anne-Marie (anne-marie.darras@aphp.fr)

VIROLOGIE :

LERUEZ Marianne (marianne.leruez@aphp.fr)

BOUTOLLEAU David (david.boutolleau@aphp.fr)

BURREL Sonia (sonia.burrel@psl.aphp.fr)

HOUHOU Nadira (nadira.houhou@aphp.fr)

VAULOUP-FELLOUS Christelle (christelle.vauloup@aphp.fr)

ROZENBERG Flore (flore.rozenberg@cch.aphp.fr)

BOUTHRY Elise (elise.bouthry@aphp.fr)

PETIT Jean-Claude (jean-claude.petit@aphp.fr)

FAIBIS Frédéric (ffaibis@ghef.fr)

DUBOIS Claire

BACHOUR Bassel (bassel.bachour@aphp.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIES :

MOULIN Florence (florence.moulin@aphp.fr)

GAJDOS Vincent (vincent.gajdos@aphp.fr)

PAREZ Nathalie (nathalie.parez@aphp.fr)

GRIMPREL Emmanuel (emmanuel.grimprel@aphp.fr)

GAUDELUS Joël (joel.gaudelus@aphp.fr)

LORROT Mathie (mathie.lorrot@aphp.fr)

AUJARD Yannick (yannick.aujard@aphp.fr)

DOMMERGUE Marie-Aliette (madommergues@wanadoo.fr)

HAU Isabelle (isabelle.hau@chicreteil.fr)

MILLONES GONZALES Marco (marco.millones-gonzales@aphp.fr)

KIEFFER François (francois.kieffer@aphp.fr)

ORL :

TESSIER Natacha (natacha.teissier@aphp.fr)

Hauts-de-France :

AMIENS :

CPDPN :

GONDRIY Jean (gondry.jean@chu-amiens.fr)

VIROLOGIE :

LESUEUR Claudine (Lesueur.Claudine@chu-amiens.fr)

SEGARD Christine (segard.christine@chu-amiens.fr)

ZAWADZKI Patricia (Zawadzki.Patricia@chu-amiens.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

LEKE LOKOMBE Marie Louise (marie-louise.leke-lokombe@chu-amiens.fr)

LILLE :

CPDPN :

DEBARGE Véronique (veronique.debarga@chru-lille.fr)

VAAST Pascal (pascal.vaast@chru-lille.fr)
VIROLOGIE:
DEWILDE Anny (anny.dewilde@chru-lille.fr)
ENGELMANN Ilka (ilka.engelmann@chru-lille.fr)
LAZREK Mouna (mouna.lazrek@chru-lille.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
TRUFFERT Patrick (patrick.truffert@chru-lille.fr)

LENS:

OBSTETRIQUE
VALAT Anne Sylvie (asvalat@ch-lens.fr)
DEMEYERE Mathilde (demeyeremathilde@gmail.com)

Pays-de-la-Loire :

NANTES :

CPDPN :
WINER Norbert (norbert.winer@chu-nantes.fr)
VIROLOGIE :
BRESSOLLETTE Céline (celine.bressollette@chu-nantes.fr)
COSTE BUREL Marianne (marianne.coste@chu-nantes.fr)
IMBERT-MARCILLE Berthe Marie (berthe-marie.imberty@univ-nantes.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
FLAMANT Cyril (cyril.flamant@chu-nantes.fr)
GRASLEGUEN Christelle (christele.grasleguen@chu-nantes.fr)
OBSTETRIQUE :
LE VAILLANT Claudine (claudine.levaillant@chu-nantes.fr)

LE MANS :

CPDPN :
JULIEN Emmanuel (ejulien@ch-lemans.fr)
OBSTETRIQUE :
CHEVE Marie-Thérèse (mcheve@ch-lemans.fr)

ANGERS :

CPDPN :
BIQUARD Florence (fbiquard@chu-angers.fr)
VIROLOGIE:
BOUTHRY Elise (elbouthry@chu-angers.fr)
DUCANCELLE Alexandra (AIDucancelle@chu-angers.fr)
LE GUILLOU-GUILLEMETTE Hélène (heleguillou@chu-angers.fr)
LUNEL-FABIANI Françoise (FrLunel-Fabiani@chu-angers.fr)
VEILLON Pascal (paveillon@chu-angers.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
LEBOUCHER Bertrand (beleboucher@chu-angers.fr)

Provence-Alpes-Côte d'Azur

MARSEILLE :

CPDPN :
GUIDICELLI Béatrice (Beatrice.GUIDICELLI@ap-hm.fr)
HAUMONTE Jean-Baptiste (jeanbaptiste.haumonte@ap-hm.fr)
PHILIP Nicole (nicole.philip@ap-hm.fr)
DERCOLE Claude (claudie.dercole@mail.ap-hm.fr)
VIROLOGIE :
GAZIN Céline (Celine.GAZIN@ap-hm.fr)
ZANDOTTI Christine (christine.zandotti@ap-hm.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIES :
GIRE Catherine (Catherine.gire@ap-hm.fr)
BOUBRED Farid (farid.boubred@ap-hm.fr)
MINODIER Philippe (philippe.minodier@ap-hm.fr)

GARCIA Patricia (patricia.garcia@ap-hm.fr)

NICE :

CPDPN :

PAQUIS Véronique (veronique.paquis@unice.fr)

TRASTOUR Cynthia (trastour.c@chu-nice.fr)

VIROLOGIE :

CANNAVO Isabelle (cannavo.i@chu-nice.fr)

GIORDANENGO Valérie (giordanengo.v@chu-nice.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

HAAS Hervé (haas.h@pediatrie-chulenal-nice.fr)

MARIOLI Sandrine (marioli.s@chu-nice.fr)

MAILLOTTE Anne-Marie (maillotte.am@chu-nice.fr)

Nouvelle-Aquitaine :

PAU :

VIROLOGIE :

VILLENEUVE Laurent (laurent.villeneuve@ch-pau.fr)

BOURROUILLOU Aude (aude.bourrouillou@ch-pau.fr)

BAYONNE :

VIROLOGIE :

LEYSSENE David (dleyssene@ch-cotebasque.fr)

OBSTETRIQUE:

LEVRIER Sophie (slevrier@ch-cotebasque.fr)

BORDEAUX :

CPDPN :

COATLEVEN Frédéric (frederic.coatleven@chu-bordeaux.fr)

ROQUAND-WAGNER Emilie (e.roquand-wagner@mspb.com)

OBSTETRIQUE :

COICAUD Marianne (marianne.coicaud@chu-bordeaux.fr)

VIROLOGIE :

GARRIGUE Isabelle (isabelle.garrigue@chu-bordeaux.fr)

LAFON Marie Edith (marie-edith.lafon@u-bordeaux.fr)

TRIMOULET Pascale (pascale.trimoulet@chu-bordeaux.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE:

Dr LOOT Maya (maya.loot@chu-bordeaux.fr)

BRISSAUD Olivier (olivier.brissaud@chu-bordeaux.fr)

BERTRAND Clotilde (c.bertrand@mspb.com)

POITIERS:

CPDPN:

GOUA Valérie (v.goua@chu-poitiers.fr)

DUGUE MARECHAUD Martine (marechaud-dan@chu-poitiers.fr)

VIROLOGIE :

AGIUS Gérard (g.agius@chu-poitiers.fr)

BEBY-DEFAUX Agnès (agnes.begy-defaux@chu-poitiers.fr)

BOURGOIN Anne (a.bourgoin@chu-poitiers.fr)

GIRAudeau GENEVIÈVE (g.giraudeau@chu-poitiers.fr)

LEVEQUE Nicolas (Nicolas.LEVEQUE@chu-poitiers.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

PARIZEL Aude (aude.parizel@chu-poitiers.fr)

LIMOGES :

CPDPN :

COSTE MAZEAU Perrine (perrine.costemazeau@chu-limoges.fr)

FIORENZA Maryse (maryse.fiorenza@chu-limoges.fr)

VIROLOGIE :

ALAIN Sophie (sophie.alain@chu-limoges.fr)

HANTZ Sébastien (sebastien.hantz@chu-limoges.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

BEDU Antoine (antoine.bedu@chu-limoges.fr)

ORL :

LERAT Justine (justine.lerat@chu-limoges.fr)

LIBOURNE :

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

NELSON Jean-René

Auvergne-Rhône-Alpes :

LYON :

CPDPN :

MASSARDIER Jérôme (jerome.massardier@chu-lyon.fr)

ATTIA Jocelyne (jocelyne.attia@chu-lyon.fr)

RUDIGOZ René (rene.rudigoz@chu-lyon.fr)

HUISSOUD Cyril (cyril.huissoud@chu-lyon.fr)

CHAMPION RASKIN Fabienne (fabienne.raskin@chu-lyon.fr)

GAUCHERAND Pascal (pascal.gaucherand@chu-lyon.fr)

DELAYER Delphine (delphine.delayer@chu-lyon.fr)

VIROLOGIE :

DOMENACH Vinca (vinca.domenach-icard@chu-lyon.fr)

ESCURET Vanessa (vanessa.escuret@chu-lyon.fr)

BILLAUD Genevieve (genevieve.billaud@chu-lyon.fr)

FROBERT Emilie (emilie.frobert@chu-lyon.fr)

MEKKI Yahia (yahia.mekki@chu-lyon.fr)

MILON Marie Paule (marie-paule.milon@chu-lyon.fr)

MORFIN-SHERPA Florence (florence.morfin-sherpa@chu-lyon.fr)

FICHEZ Axel (axel.fichez@chu-lyon.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

HME : CLARIS Olivier (olivier.claris@chu-lyon.fr)

Croix rousse : PICAUD Jean-Charles (jean-charles.picaud@chu-lyon.fr)

LABAUNE Jean-Marc (jean-marc.labaune@chu-lyon.fr)

CLERMONT-FERRAND :

CPDPN :

LAURICHESSE Hélène (helaurichesse@chu-clermontferrand.fr)

LEMERY Didier (dlemery@chu-clermontferrand.fr)

VIROLOGIE :

ARCHIMBAUD Christine (carchimbaud@chu-clermontferrand.fr)

BREBION Amélie (abrebion@chu-clermontferrand.fr)

HENQUELL Cécile (chenquell@chu-clermontferrand.fr)

MIRAND Audrey (amirand@chu-clermontferrand.fr)

REGAGNON Christelle (cregagnon@chu-clermontferrand.fr)

PEDIATRIE NEONATOLOGIE :

LABBE André (alabbe@chu-clermontferrand.fr)

OBSTETRIQUE :

GALLOT Denis (dgallot@chu-clermontferrand.fr)

GRENOBLE :

CPDPN :

JOUK Pierre-Simon (PSJouk@chu-grenoble.fr)

VIROLOGIE :

GERMI Raphaële (rgermi@chu-grenoble.fr)

LUPO Julien (JLupo@chu-grenoble.fr)
MORAND Patrice (pmorand@chu-grenoble.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
DEBILLON Thierry (tdebillon@chu-grenoble.fr)
EPIARD Chloé (cepiard@chu-grenoble.fr)
OBSTETRIQUE :
EQUY Véronique (vequy@chu-grenoble.fr)
ORL :
TROUSSIER Joelle (jtroussier@chu-grenoble.fr)

SAINT ETIENNE :

CPDPN:
PRIEUR Fabienne (fabienne.pieur@chu-st-etienne.fr)
VIROLOGIE :
PILLET Sylvie (sylvie.pillet@chu-st-etienne.fr)
POZZETTO Bruno (bruno.pozzetto@chu-st-etienne.fr)
BOURLET Thomas (thomas.bourlet@chu-st-etienne.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE:
PATURAL Hugues (hugues.patural@chu-st-etienne.fr)

AVIGNON :

VIROLOGIE:
PESENTI Delphine (pesenti.delphine@ch-avignon.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
MASSON Philippe (pmasson@ch-avignon.fr)

SAINT FLOUR :

OBSTETRIQUE :
VLADIMIROV Vladimir (vvladimirov@ch-stflour.fr)

LABORATOIRE BIOMNIS :

VIROLOGIE :
JACOMO Véronique (veronique.jacomo@biomnis.com)

DOM-TOM :

MARTINIQUE :

CPDPN :
GUENERET Michèle (michele.gueneret@chu-fortdefrance.fr)
SCHAUB Bruno (bruno.schaub@chu-fortdefrance.fr)
OBSTETRIQUE :
JOLIVET Eugénie (eugenie.jolivet@chu-fortdefrance.fr)
VIROLOGIE :
CESAIRE Raymond (raymond.cesaire@chu-fortdefrance.fr)
NAJIOULLAH Fatiha (Fatiha.NAJIOULLAH@chu-martinique.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
KETTERER-MARTINON Sophie (sophie.ketterer-martinon@chu-martinique.fr)

GUADELOUPE :

CPDPN :
JANKY Eustase (eustase.janky@chu-guadeloupe.fr)
VIROLOGIE :
HERMANN Cécile (cecile.hermann@chu-guadeloupe.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
Basse-Terre : SIBILLE Gérard (gerard.sibille@ch-labasseterre.fr)

LA REUNION :

CPDPN :
KAUFFMANN Edouard (edouard.kauffmann@chu-reunion.fr)

LAFFITTE Annick (annick.laffitte@chu-reunion.fr)
DORAY Bérénice (berenice.doray@chu-reunion.fr)
VIROLOGIE :
ROQUEBERT Bénédicte (benedicte.roquebert@chu-reunion.fr)
PEDIATRIE NEONATOLOGIE :
IACOBELLI Silvia (silvia.iacobelli@chu-reunion.fr)
BOUMAHNI Brahim (brahim.boumahni@chu-reunion.fr)

NOUVELLE CALEDONIE :

CPDPN :
sec.gynecoc@cht.nc
VIROLOGIE :
GOURINAT Ann-Claire (Ann-claire.gourinat@cht.nc)
PEDIATRIE :
CASTELLA Clément (clement.castella@cht.nc)

POLYNESIE FRANCAISE :

VIROLOGIE :
LASTERE Stéphane (stephane.lastere@cht.pf)

Nouveaux au réseau en 2019

Nouveaux au réseau en 2020

Questionnaire de recensement en ligne des infections congénitales par le CMV :

RECENSEMENT: INFECTIONS CONGENITALES PAR LE CMV

MERE

Sommaire

- [Mère](#)
- [Mère: données cliniques](#)
- [Mère: données biologiques](#)
- [Mère: conclusion et traitement](#)
- [Mère: devenir de la grossesse](#)

MERE

Numéro d'anonymat

Nom d'usage

Nom de jeune fille

Prénom

Date de naissance

Commune de résidence

Pays de naissance

Profession en lien avec des enfants de moins de 3 ans **Oui, Non, Non renseigné**

Précisez : **Dans un centre de soins, Garde d'enfants à domicile, Crèche, Autre**

Immunodépression **Oui, Non, Non renseigné**

Sérologie pour la toxoplasmose **Oui, Non, Non renseigné**

Sérologie pour le CMV effectuée avant la grossesse **Oui, non, non renseigné**

Contexte **Durant une grossesse antérieure, En vue de la grossesse actuelle, Autre, Non renseigné**

IgM recherchées **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

IgG recherchées **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

Valider cette partie

MERE: DONNEES CLINIQUES

Date de début de grossesse

Grossesse multiple **Oui Non**

Nombre de fœtus

Gestité

Parité

Contexte diagnostique **Demande du médecin, Demande de la mère, Dépistage systématique, Pas de diagnostic, Non renseigné**

Pour signes échographiques **Oui, Non, Non renseigné**

Merci de bien vouloir créer une fiche "Fœtus/Nouveau-né" ou de la compléter en saisissant les données requises (dans la partie "Fœtus: clinique").

Si vous n'avez pas réalisé l'échographie, merci de bien vouloir créer une fiche "Spécialistes" et d'y saisir les coordonnées de l'Obstétricien qui l'a réalisée.

Pour symptômes maternels **Oui, Non, Non renseigné**

Symptôme principal **Fièvre, Fatigue, Myalgie, Arthralgie, Maux de tête, Pharyngite, Cytolyse, Lymphocytose, Adénopathie, Autre, Non renseigné**

Valider cette partie

MERE: DONNEES BIOLOGIQUES

Sérologie pour le CMV effectuée pendant la grossesse **Oui, Non, Non renseigné**

-IgM recherchées **Oui, Non, Non renseigné**

Méthode

Date

Soit en SA

Saisir la valeur en SA calculée

Résultat

-IgG recherchées **Oui, Non, Non renseigné**

Méthode

Date

Soit en SA

Saisir la valeur en SA calculée

Résultat

-Avidité des IgG mesurée **Oui, Non, Non renseigné**

Méthode

Résultat (%)

Date

Soit en SA

Saisir la valeur en SA calculée

Analyses biomoléculaires du CMV effectuées **Oui, Non, Non renseigné**

-PCR sur sérum effectuée **Oui, Non, Non renseigné**

Date

Charge virale en UI
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
Interprétation
Soit en SA
Saisir la valeur en SA calculée
A défaut, charge virale en copies/ml
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**

-PCR sur sang total effectuée **Oui, Non, Non renseigné**

Date

Charge virale en UI
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
Interprétation
Soit en SA
Saisir la valeur en SA calculée
A défaut, charge virale en copies/ml
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**

Prélèvements maternels disponibles pour le CNR **Oui, Non**

-Sérum **Oui, Non**

Date du prélèvement 1

Date du prélèvement 2

Date du prélèvement 3

-Sang total **Oui, Non**

Date du prélèvement 1

Date du prélèvement 2

Date du prélèvement 3

-Souche virale **Oui, Non**

Date du prélèvement 1

Date du prélèvement 2

Date du prélèvement 3

-Génotype de la souche

Merci de bien vouloir saisir les coordonnées de tout nouveau spécialiste (obstétricien et/ou biologiste) en créant une fiche "spécialistes".

Valider cette partie

MERE: CONCLUSION ET TRAITEMENT

Conclusion **Primo-infection maternelle, Infection maternelle secondaire, Equivoque, Infection maternelle ancienne, Pas d'infection maternelle, Pas de diagnostic maternel lié au CMV effectué, Infection maternelle par le CMV non renseignée**

A quel trimestre de la grossesse **Infection périconceptionnelle, Infection périconceptionnelle ou au 1^{er} trim., 1^{er} trimestre, 2^{ème} trimestre, 3^{ème} trimestre, Non renseigné**

Traitement anti CMV pendant la grossesse **Oui, Non, Non renseigné**

Lequel **Immunoglobulines, Valaciclovir, Autre, Non renseigné**

Dose en mg/kg/jour

Durée initialement prévue en jours

Réponse au traitement satisfaisante **Oui, Non, Non renseigné**

Si Non : Décision : **Arrêt, Poursuite, Changement de molécule**

Durée effective du traitement

Raison du traitement **Essai clinique, Engagement de la responsabilité du médecin, Non renseigné**

Valider cette partie

MERE: DEVENIR DE LA GROSSESSE

Devenir de la grossesse **Naissance, IMG, Mort fœtale in utero, IVG, Non connu**

Si IMG :

Examen d'anatomie-pathologie réalisé : **Oui, Non, Non renseigné**

Si Oui : commentaires :

Terme en SA

Si l'IMG a été justifiée par des résultats d'examens chez le fœtus (imagerie, biologie), merci de remplir les parties « Fœtus : données cliniques », « Fœtus : données biologiques » et « Fœtus : conclusion ».

Si MFIU :

Examen d'anatomie-pathologie réalisé : **Oui, Non, Non renseigné**

Si Oui : commentaires :

Terme en SA

Si IVG :

Terme en SA

Si naissance :

Date de naissance

Terme en SA

Saisir la valeur en SA calculée

Merci de bien vouloir créer une fiche "Fœtus/Nouveau-né" et d'y saisir l'identité du nouveau-né.

Merci de bien vouloir créer une fiche "Spécialistes" et d'y saisir les coordonnées du pédiatre.

Valider cette partie

© voozanoo / epiconcept 2013

Sommaire

- Foetus: données cliniques
- Foetus: données biologiques
- Foetus: conclusion
- Nouveau-né: identité
- Nouveau-né: données cliniques
- Nouveau-né: données biologiques
- Nouveau-né: conclusion
- Nouveau-né: décès

FŒTUS: DONNEES CLINIQUES

Contexte diagnostique **Primo-infection chez la mère, Infection secondaire chez la mère, Découverte d'anomalies échographiques, Pas de diagnostic lié au CMV effectué, Autre, Non renseigné**

Merci de bien vouloir compléter la partie "Mère".

Echographie réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Si l'échographie a été réalisée par un autre Obstétricien, merci de bien vouloir créer une fiche "Spécialistes" (accessible dans la partie "Mère") et d'y saisir ses coordonnées.

Date de la plus récente

Soit en SA

Saisir la valeur en SA calculée

1- Cerveau normal **Oui, Non, Non renseigné**

-Ventriculomégalie **Oui, Non, Non renseigné**

Taille en mm

-Kyste sub-épendymal **Oui, Non, Non renseigné**

Nombre

Taille en mm

-Kyste des cornes occipitales **Oui, Non, Non renseigné**

Cloison intraventriculaire **Oui, Non, Non renseigné**

Nombre

Taille en mm

-Trouble de la gyration **Oui, Non, Non renseigné**

-Lissencéphalie **Oui, Non, Non renseigné**

-Hypoplasie cérébelleuse **Oui, Non, Non renseigné**

Taille en mm

-Calcifications **Oui, Non, Non renseigné**

-Hémorragie intraventriculaire **Oui, Non, Non renseigné**

-Hémorragie intracérébrale **Oui, Non, Non renseigné**

-Agénésie du corps calleux **Oui, Non, Non renseigné**

-Hypoplasie du corps calleux **Oui, Non, Non renseigné**

-Microcéphalie (périmètre < 5ème percentile) **Oui, Non, Non renseigné**

-Image en candélabre **Oui, Non, Non renseigné**

-Halo ventriculaire hyper-échogène **Oui, Non, Non renseigné**

2- Abdomen normal **Oui, Non, Non renseigné**

-Ascites **Oui, Non, Non renseigné**

-Intestin hyper-échogène **Oui, Non, Non renseigné**

-Calcifications hépatiques **Oui, Non, Non renseigné**

-Hépatomégalie **Oui, Non, Non renseigné**

Taille en cm

-Splénomégalie **Oui, Non, Non renseigné**

Taille en cm

3- Liquide amniotique normal **Oui, Non, Non renseigné**

-Oligo-amnios **Oui, Non, Non renseigné**

Citerne la plus profonde en cm

-Hydramnios **Oui, Non, Non renseigné**

Citerne la plus profonde en cm

4- Placenta normal **Oui, Non, Non renseigné**

- Épaisseur au niveau de l'insertion du cordon en cm
- Calcification du placenta **Oui, Non, Non renseigné**

5- Thorax normal **Oui, Non, Non renseigné**

- Cardiomégalie **Oui, Non, Non renseigné**
- Epanchement pleural **Oui, Non, Non renseigné**
- Epanchement péricardique **Oui, Non, Non renseigné**

6- RCIU < 5ème percentile **Oui, Non, Non renseigné**

IRM réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Merci de créer une fiche "Spécialistes" (accessible dans la partie "Mère") et d'y saisir les coordonnées du radiologue qui a réalisé l'IRM.

Date

Soit en SA

Saisir la valeur en SA calculée

Cerveau normal **Oui, Non, Non renseigné**

- Ventriculomégalie **Oui, Non, Non renseigné**

Taille en mm

- Kyste sub-épendymal **Oui, Non, Non renseigné**

Nombre

Taille en mm

- Kyste des cornes occipitales **Oui, Non, Non renseigné**

Cloison intraventriculaire **Oui, Non, Non renseigné**

Nombre

Taille en mm

- Trouble de la gyration **Oui, Non, Non renseigné**

- Lissencéphalie **Oui, Non, Non renseigné**

- Porencéphalie **Oui, Non, Non renseigné**

- Schizencéphalie **Oui, Non, Non renseigné**

- Anomalie des signaux cérébelleux **Oui, Non, Non renseigné**

- Hypoplasie cérébelleuse **Oui, Non, Non renseigné**

Taille en mm

- Calcifications **Oui, Non, Non renseigné**

- Hémorragie intraventriculaire **Oui, Non, Non renseigné**

- Hémorragie intracérébrale **Oui, Non, Non renseigné**

- Agénésie du corps calleux **Oui, Non, Non renseigné**

- Hypoplasie du corps calleux **Oui, Non, Non renseigné**

- Microcéphalie (périmètre < 5ème percentile) **Oui, Non, Non renseigné**

Valider cette partie

FŒTUS: DONNEES BIOLOGIQUES

Amniocentèse réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Date

Soit en SA

Saisir la valeur en SA calculée

- PCR réalisée sur le liquide amniotique **Oui, Non, Non renseigné**

Charge virale en UI

Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**

A défaut, charge virale en copies/ml

Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**

Interprétation **Positif, Négatif**

- Culture réalisée sur liquide amniotique **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

Ponction de sang fœtal réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Date

Soit en SA

Saisir la valeur en SA calculée

- Numération plaquettaire réalisée sur sang fœtal : **Oui, Non, Non renseigné**
Résultat par mm³

-PCR réalisée sur le sang fœtal **Oui, Non, Non renseigné**

Charge virale en UI
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
A défaut, charge virale en copies/ml
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
Interprétation **Positif, Négatif**

-Culture réalisée sur le sang fœtal **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

-Virémie recherchée sur le sang fœtal **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

-Présence d'IgM recherchée sur le sang fœtal **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

Prélèvements disponibles pour le CNR **Oui, Non**

-Sang fœtal **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Liquide amniotique **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Souche virale (sang foetal) **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Souche virale (liquide amniotique) **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Génotype de la souche

Merci de bien vouloir créer une fiche "Spécialistes" (accessible dans la partie "mère") et d'y saisir les coordonnées de tout nouveau Biologiste ou Obstétricien en charge du dossier.

Valider cette partie

FŒTUS: CONCLUSION

Conclusion du diagnostic prénatal **Infection congénitale, Pas d'infection, Pas de diagnostic lié au CMV effectué, Non renseigné**

Quelle que soit la conclusion du diagnostic prénatal, merci de renseigner le diagnostic maternel (et les traitements éventuels pendant la grossesse) en remplissant la partie « Mère : conclusion », et le devenir de la grossesse en remplissant la partie «Mère : devenir de la grossesse ».

Valider cette partie

NOUVEAU-NE: IDENTITE

Numéro d'anonymat
Nom
Prénom
Date de naissance de l'enfant déclarée dans la partie "Mère"
Date de naissance
Sexe **Masculin, Féminin, Non renseigné**
Commune de résidence de la mère au moment de la naissance

ATTENTION:

Les pages suivantes (données clinique, biologiques, etc) seront accessibles quand les titulaires de l'autorité parentale auront donné leur consentement pour l'inclusion de leur enfant dans ce recensement.

Les pédiatres (autres spécialités éventuellement) devront effectuer cette démarche auprès des parents à l'aide des documents disponibles sur la page d'accueil.

Merci de votre compréhension.

Signature du consentement par les titulaires de l'autorité parentale pour l'inclusion de l'enfant **Oui, Non, Non renseigné**

Valider cette partie

NOUVEAU-NE: DONNEES CLINIQUES

Contexte du diagnostic **Diagnostic prénatal d'infection par le CMV, Primo-infection maternelle, Infection maternelle secondaire, Signes cliniques à la naissance, Anomalies échographiques, Pas de diagnostic lié au CMV effectué, Autre, Non renseigné**

Merci de créer une fiche "Spécialistes" (accessible dans la partie "Mère") et d'y saisir les coordonnées de l'Obstétricien en charge du dossier.

Merci de bien vouloir compléter la fiche "Mère: identité" dans la partie "Mère".

Merci de bien vouloir compléter les fiches "Fœtus" si vous avez les données.

Terme à la naissance en SA

Terme à la naissance en SA

Naissance par: **Voie basse non instrumentale, Voie basse instrumentale, césarienne programmée, césarienne en urgence**

Poids à la naissance en g

Taille à la naissance en cm

Périmètre crânien à la naissance en cm

APGAR à 1 minute

APGAR à 5 minutes

Signes cliniques à la naissance et jusqu'à 2 mois de vie **Oui, Non, Non renseigné**

-Prématurité **Oui, Non, Non renseigné**

-RCIU < 10ème percentile **Oui, Non, Non renseigné**

-Purpura **Oui, Non, Non renseigné**

Date de la découverte

Age du nouveau-né en jours

-Choriorétinite **Oui, Non, Non renseigné**

Date de la découverte

Age du nouveau-né en jours

-Microcéphalie **Oui, Non, Non renseigné**

-Hépatosplénomégalie **Oui, Non, Non renseigné**

Date de la découverte

Age du nouveau-né en jours

-Surdité **Oui unilatérale, Oui bilatérale, Non, Non renseigné**

Date de la découverte

Age du nouveau-né en jours

-Autres **Oui, Non, Non renseigné**

Précisez

Valider cette partie

NOUVEAU-NE: DONNEES BIOLOGIQUES

Signe biologiques à la naissance **Oui, Non, Non renseigné**

-Anémie hémolytique **Oui, Non, Non renseigné**

Date de la découverte

Age du nouveau-né en jours

Saisir la valeur en jours calculée

-Thrombopénie **Oui, Non, Non renseigné**

Date de la découverte

Age du nouveau-né en jours

Saisir la valeur en jours calculée

Résultat de la numération plaquettaire par mm³

-Hyperbilirubinémie **Oui, Non, Non renseigné**

Date de la découverte
Age du nouveau-né en jours
Saisir la valeur en jours calculée

- Augmentation des ALAT **Oui, Non, Non renseigné**

Taux sanguin des ALAT en UI/L
Date de la découverte
Age du nouveau-né en jours
Saisir la valeur en jours calculée

Recherche de CMV à la naissance **Oui, Non, Non renseigné**

-Urines du nouveau-né analysées **Oui, Non, Non renseigné**

Date
Age du nouveau-né en jours
Saisir la valeur en jours calculée

-PCR sur urines réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Charge virale en UI
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
A défaut, charge virale en copies/ml
Unité **Copies/ml, Log 10 (copies/ml)**
Interprétation **Positif, Négatif**

-Culture sur urines réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

-Salive du nouveau-né analysée **Oui, Non, Non renseigné**

Date
Age du nouveau-né en jours
Saisir la valeur en jours calculée

-PCR sur salive réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Charge virale en UI
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
A défaut, charge virale en copies/ml
Unité **Copies/ml, Log 10 (copies/ml)**
Interprétation **Positif, Négatif**

-Culture sur salive réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

-Sang du nouveau-né analysé **Oui, Non, Non renseigné**

Date
Age du nouveau-né en jours
Saisir la valeur en jours calculée

-PCR sur sang réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Charge virale en UI
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
A défaut, charge virale en copies/ml
Unité **Copies/ml, Log 10 (copies/ml)**
Interprétation **Positif, Négatif**

-Culture sur sang réalisée **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

-IgM recherchées **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Positif, Négatif**

-Rétrospectif sur Guthrie réalisé **Oui, Non, Non renseigné**

Charge virale en UI
Unité **UI/ml, Log10(UI/ml)**
A défaut, charge virale en copies/ml
Unité **Copies/ml, Log 10 (copies/ml)**
Interprétation **Positif, Négatif**

Prélèvements du nouveau-né disponibles pour le CNR **Oui, Non**

-Urine **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Salive **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Sang **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Souche virale (urine) **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Souche virale (salive) **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Souche virale (sang) **Oui, Non**

Date du prélèvement 1
Date du prélèvement 2
Date du prélèvement 3

-Génotype de la souche

Merci de bien vouloir saisir les coordonnées de tout nouveau spécialiste (biologiste et/ou pédiatre) en créant une fiche "spécialistes" (accessible dans la partie "mère").

Valider cette partie

NOUVEAU-NE: CONCLUSION

Diagnostic postnatal **Infection congénitale, Infection acquise, Pas d'infection, Pas de diagnostic lié au CMV effectué, Non renseigné**

Nouveau-né **Symptomatique, Asymptomatique, Non renseigné**

Traitement du nouveau-né pour le CMV **Oui, Non, Non renseigné**

Molécule **ganciclovir, valganciclovir, Autre, Non renseigné**

Dose en mg/kg/jour

Durée initialement prévue en jours

Réponse au traitement **Stabilisation des symptômes, Régression des symptômes, Progression des symptômes, Non renseigné**

Complication due au traitement : neutropénie $<1000/\text{mm}^3$ **Oui, Non, Non renseigné**

Si progression des symptômes et/ou neutropénie : Décision : **Arrêt, Poursuite, Changement de molécule, Non renseigné**

Durée effective du traitement en jours

L'enfant fera-t 'il l'objet d'un suivi dans le cadre de son infection congénitale par le CMV? **Oui, Non, Non renseigné**

Si non, pour quelle raison **Décès du nouveau-né, Enfant perdu de vue, Souhait des parents, Enfant asymptomatique, Autre, Non renseigné**

Merci de bien vouloir saisir les coordonnées de tout nouveau spécialiste (Biologiste, Pédiatre, ORL, Neurologue, Ophtalmologue) en créant une fiche "spécialistes" (accessible dans la partie "mère").

Valider cette partie

NOUVEAU-NE: DECES

Décès de l'enfant au cours de ses deux premiers mois de vie **Oui, Non, Non renseigné**

Date

Age du nouveau-né en jours

Décès lié au CMV : **Oui, Non, Non renseigné**

Valider cette partie

© voozanoo / epiconcept 2013

Pour cette partie : autant de fiches que de visites de suivi
Sommaire

- [Enfant: identité](#)
- [Enfant: visite de suivi](#)
- [Enfant: bilan ORL](#)
- [Enfant: bilan neurologique](#)
- [Enfant: bilan ophtalmologique](#)
- [Enfant: examens complémentaires](#)
- [Enfant: décès](#)

ENFANT: IDENTITE

Pour enregistrer une nouvelle visite de suivi de l'enfant, vous devez créer une nouvelle fiche de suivi: vous y accédez par la partie "Fœtus/Nouveau-né", en cliquant sur le "+" de la fenêtre "Suivi de l'Enfant".

Numéro d'anonymat
Nom
Prénom
Date de naissance
Sexe **Masculin, Féminin, Non renseigné**

ENFANT: VISITE DE SUIVI

Pour chaque nouvelle visite de suivi de l'enfant, vous devez créer une nouvelle fiche de suivi: vous y accédez par la partie "Fœtus/Nouveau-né", en cliquant sur le "+" de la fenêtre "Suivi de l'Enfant".

Type de la visite **ORL, neurologie, Ophtalmologie, autre, non renseigné**
Date de la visite
Age de l'enfant en années
Age de l'enfant en mois
Age de l'enfant en jours
Contexte du suivi **Lié à l'infection congénitale, Liée à l'infection acquise en période néonatale, Demande de la famille ou du médecin traitant pour apparition de symptômes, Autres, Non renseigné**
Traitement anti CMV (passé ou en cours) **Oui, Non, Non renseigné**
Molécule **Ganciclovir, Valganciclovir, Autre, Non renseigné**
Dose en mg/kg/jour
Age de l'enfant ou du nouveau-né au début du traitement
Durée initialement prévue en jours
Durée effective du traitement en jours
Symptômes chez l'enfant ou le nouveau né ayant motivé le traitement : **Surdité, Atteinte neurologique, Signes biologiques, Maladie de inclusions cytomégaliqes, Aucun, Non renseigné**
Commentaires
Prochaine visite programmée **Oui, Non, Non renseigné**
Date

ENFANT: BILAN ORL

Résultat de l'examen ORL **Normal, Otite séreuse unilatérale, Otite séreuse bilatéral, Otite chronique unilatérale, Otite chronique bilatérale, Non renseigné**
Stade actuel du langage **Aucun, Babillages, Premiers mots, Association de mots, Phrases, Non renseigné**
Age d'acquisition en mois (si non acquis à la précédente visite)
Bilan orthophonique effectué **Oui, Non, Non renseigné**
Soutien orthophonique mis en place **Oui, Non, Non renseigné**
Surdité **Oui, Non, Non renseigné**
Méthode d'évaluation auditive utilisée **Audiogramme champ libre, Audiogramme oreilles séparées, Potentiels évoqués auditifs ASSR, Non renseigné**
Seuil auditif moyen de l'oreille gauche en dB

Résultat de l'audiogramme gauche **Normale, Partielle asymétrique, Partielle symétrique, Absente bilatérale, Non renseigné**

Seuil auditif moyen de l'oreille droite en dB

Résultat de l'audiogramme droit **Normale, Partielle asymétrique, Partielle symétrique, Absente bilatérale, Non renseigné**

Bilan vestibulaire effectué **Oui, Non, Non renseigné**

Age de tenue de tête en mois

Age de station assise en mois

Age de la marche en mois

Fonction canalaire testée **Oui, Non, Non renseigné**

Par test calorique **Oui, Non, Non renseigné**

Fonction canalaire **Normale, Partielle asymétrique, Partielle symétrique, Absente bilatérale, Non renseigné**

par EVAR **Oui, Non, Non renseigné**

Fonction canalaire **Normale, Partielle asymétrique, Partielle symétrique, Absente bilatérale, Non renseigné**

Par HIT **Oui, Non, Non renseigné**

Résultat **Fonction canalaire absente, Fonction canalaire présente, Non renseigné**

Fonction otolithique testée **Oui, Non, Non renseigné**

Par OVAR **Oui, Non, Non renseigné**

Fonction otolithique **Normale, Partielle asymétrique, Partielle symétrique, Absente bilatérale, Non renseigné**

Par PEOM **Oui, Non, Non renseigné**

Fonction otolithique **Normale, Partielle asymétrique, Partielle symétrique, Absente bilatérale, Non renseigné**

Décision

Surveillance **Oui, Non, Non renseigné**

Précisez l'âge au prochain rendez-vous

Précisez l'âge au prochain bilan auditif

Précisez l'âge au prochain bilan vestibulaire

Rééducation orthophonique **Oui, Non, Non renseigné**

Précisez le nombre de séances par semaine

Prise en charge particulière (CAMSP, ...) **Oui, Non, Non renseigné**

Prothèse auditive **Non, Oreille droite, Oreille gauche Non renseigné**

Implant cochléaire **Non, Oreille droite, Oreille gauche Non renseigné**

Autre geste chirurgical **Non, Adénoïdectomie, Pose d'aérateurs transtympaniques, Autres, Non renseigné**

Autre: précisez

Mise en place d'un traitement antiviral **Oui, Non, Non renseigné**

Molécule **Ganciclovir, Valganciclovir, Autre, Non renseigné**

Dose en mg/kg/jour

Durée initialement prévue en jours

Réponse au traitement **Stabilisation des symptômes, Régression des symptômes, Progression des symptômes, Non renseigné**

Complication due au traitement : neutropénie <1000/mm³ **Oui, Non, Non renseigné**

Si progression des symptômes et/ou neutropénie : Décision : **Arrêt, Poursuite, Changement de molécule, Non renseigné**

Durée effective du traitement en jours

ENFANT: BILAN NEUROLOGIQUE

Maintien acquis de la position assise **Oui, Non, Non renseigné**

Age d'acquisition en mois (si non acquis à la précédente visite)

Marche acquise **Oui, Non, Non renseigné**

Conclusion du bilan neurologique **Examen normal, Retard psychomoteur, autre, Non renseigné**

Précisez

Mise en place d'un traitement antiviral **Oui, Non, Non renseigné**

Molécule **Ganciclovir, Valganciclovir, Autre, Non renseigné**

Dose en mg/kg/jour

Durée en jours

Réponse au traitement **Stabilisation des symptômes, Régression des symptômes, Progression des symptômes, Non renseigné**

Complication due au traitement : neutropénie <1000/mm³ **Oui, Non, Non renseigné**

Si progression des symptômes et/ou neutropénie : Décision : **Arrêt, Poursuite, Changement de molécule, Non renseigné**

Durée effective du traitement en jours

Commentaires

ENFANT: BILAN OPHTALMOLOGIQUE

Conclusion du bilan ophtalmologique **Examen normal, Troubles visuels, Autre, Non renseigné**

Mise en place d'un traitement antiviral **Oui, Non, Non renseigné**

Molécule **Ganciclovir, Valganciclovir, Autre, Non renseigné**

Dose en mg/kg/jour

Durée initialement prévue en jours

Réponse au traitement **Stabilisation des symptômes, Régression des symptômes, Progression des symptômes, Non renseigné**

Complication due au traitement : neutropénie <1000/mm³ **Oui, Non, Non renseigné**

Si progression des symptômes et/ou neutropénie : Décision : **Arrêt, Poursuite, Changement de molécule, Non renseigné**

Durée effective du traitement en jours

Commentaires

ENFANT: EXAMENS COMPLEMENTAIRES

Examens complémentaires liés à l'infection par le CMV réalisés **Oui, Non, Non renseigné**

Précisez

ENFANT: DECES

Décès de l'enfant depuis sa dernière visite **Oui, Non**

Date

Age de l'enfant

Lié au CMV : **Oui, Non, Non renseigné**

© voozаноо / epiconcept 2013