

**Rapport  
d'activité**

**annuel**

**2019**

**Centre national de  
référence des ARBOVIRUS**

CNR coordonnateur

IRBA Marseille

Responsable : I. Leparc-Goffart

CNR Laboratoire associé

Région Antilles Guyane

Institut Pasteur de la Guyane

Responsable : D. Rousset

CNR Laboratoire associé

Région Océan Indien

CHU Saint Denis Réunion

Responsable : M-C. Jaffar-Bandjee

**Année d'exercice**

**2018**

# Résumé analytique

La surveillance des maladies virales transmises par les arthropodes hématophages ou arboviroses en France est principalement orientée sur les virus de la Dengue, du Chikungunya et du Zika, suite aux émergences consécutives des dernières années dans le monde et notamment dans les départements et territoires d'outre-mer français. Pour l'année 2018, le focus sur ces virus traditionnels a été détourné par la circulation intense du virus West-Nile en Europe et pays, avec une multiplication par 10 du nombre de cas rapportés par rapport à 2017 en Europe, dans une zone de circulation couvrant 15 pays au total au lieu de 8 l'année précédente.

Ainsi, l'activité en France métropolitaine a été impactée par une circulation importante du virus West-Nile dans la région PACA, en lien avec la circulation extraordinaire observée en Europe. Le lignage 2 du virus a été identifié pour la première fois en France métropolitaine, suite au séquençage d'un isolat d'origine aviaire. Par ailleurs, trois épisodes indépendants d'émergence du virus de la Dengue sur des communes du Var, de l'Hérault et du Gard ont été détectés et contenus. Enfin, en marge de la circulation connue du virus de l'Encéphalite à Tique dans le Nord Est et les Hautes-Alpes, un nouveau cas neurologique de TBE a été détecté en Haute-Loire, confirmant l'extension géographique de la zone à risque métropolitaine pour ce virus.

Pour la région des Départements Français d'Amérique, la situation épidémiologique s'est maintenue à un niveau pouvant être qualifié d'inter-épidémique, comparable à celle de 2017. En Guyane Française, aucun cas d'infection par les virus de la Dengue, ou Zika n'a été confirmé, et un seul cas d'infection par le virus du Chikungunya a été détecté, classé comme importé suite aux investigations. Deux cas d'infection par le virus Mayaro ont également été détectés. Enfin, un nouveau cas mortel de Fièvre Jaune a été diagnostiqué en Juillet 2018 en Guyane, confirmant la circulation du virus dans cette région.

Dans la zone Océan Indien, la circulation marquée du virus de la Dengue débutée en 2017 sur l'île de la Réunion s'est poursuivie, avec à nouveau une persistance à bas bruit au court de l'hiver austral. Comparés à 2017, où les cas étaient principalement limités à la côte ouest et sud-ouest de l'île, la circulation s'est étendue plus largement aux zones côtières du nord et du nord-Ouest, ainsi qu'au Sud. Le sérotype 2 a été le seul circulant pendant toute la période de surveillance.

# Abstract

Major and successive arbovirus (Arthropod-born virus) emerging events that have happened for the past decade around the world, including in the French overseas departments and territories, made France arboviral diseases surveillance focus mostly on Dengue, Chikungunya and Zika viruses. In 2018, this focus was shifted towards West-Nile virus (WNV) in metropolitan France, as an unusual epidemic circulation of the virus resulted in a 10-times higher number of cases spreading over 15 countries versus 8 in Europe and nearby countries, when compared to the 2017 surveillance season.

Thus, metropolitan France experienced a higher number of WNV cases compared to previous years, concentrated on the South East Mediterranean coast. After an avian viral isolate was sequenced, lineage 2 was identified for the first time in France. Furthermore, three independent Dengue virus emergence events occurred in the Var, Gard and Hérault departments, and were contained. Finally, a new Tick-born encephalitis virus infection case was detected in Haute-Loire department, confirming the virus further geographical circulating zone extension, out of the known North-East and Hautes-Alpes regions.

The epidemiological situation in the French departments in the Americas stayed fairly quiet again this year, corresponding to an interepidemic period. In French Guinea, no Dengue or Zika virus infection was detected, and only one confirmed Chikungunya virus case was reported, eventually classified as imported after investigations were done. Two Mayaro virus infections were also detected. Lastly, a new deadly case of Yellow Fever was reported in July 2018 in French Guinea, highlighting the confirmed YFV circulation in this South American region.

Regarding the Indian Ocean region, the higher than usual Dengue virus autochthonous circulation described in 2017 on La Réunion Island continued in 2018, with a low-level circulation of the virus persisting again during the austral winter time period. After most cases occurred on the West and South-West coastal regions during the previous year, the virus spread towards the North-West and North sides of the Island, as well as in the South. Serotype 2 was the only one circulating during the whole surveillance period.

## PLAN

### 1. Missions et organisation du CNR

- 1.1 CNR Arbovirus-IRBA (laboratoire coordonateur)
- 1.2 CNR-LA-IPG (CNR Laboratoire associé IP Guyane)
- 1.3 CNR-LA-LR (CNR Laboratoire associé La Réunion)

### 2. Activités d'expertise

- 2.1 Évolutions des techniques
  - 2.1.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 2.1.2 CNR-LA-IPG
  - 2.1.3 CNR-LA-LR
- 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse
  - 2.2.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 2.2.2 CNR-LA-IPG
  - 2.2.3 CNR-LA-LR
- 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires
  - 2.3.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 2.3.2 CNR-LA-IPG
  - 2.3.3 CNR-LA-LR
- 2.4 Collections de matériel biologique
  - 2.4.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 2.4.2 CNR-LA-IPG
  - 2.4.3 CNR-LA-LR
- 2.5 Activités d'expertise
  - 2.5.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 2.5.2 CNR-LA-IPG
  - 2.5.3 CNR-LA-LR
- 2.6 Activités de séquençage
  - 2.6.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 2.6.2 CNR-LA-IPG
  - 2.6.3 CNR-LA-LR

### 3. Activités de surveillance

- 3.1 Description du réseau de partenaires
  - 3.1.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 3.1.2 CNR-LA-IPG
  - 3.1.3 CNR-LA-LR
- 3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections
  - 3.2.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 3.2.2 CNR-LA-IPG
  - 3.2.3 CNR-LA-LR
- 3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux
- 3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux
- 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance
  - 3.5.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 3.5.2 CNR-LA-IPG
  - 3.5.3 CNR-LA-LR

### 4. Alerte

- 4.1 CNR Arbovirus-IRBA
- 4.2 CNR-LA-IPG
- 4.3 CNR-LA-LR

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

- 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé
  - 5.1.1 CNR Arbovirus-IRBA

- 5.1.2 CNR-LA-IPG
- 5.1.3 CNR-LA-LR
- 5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires
  - 5.2.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 5.2.2 CNR-LA-IPG
  - 5.2.3 CNR-LA-LR
- 6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR**
  - 6.1 Activités de recherche pour l'année 2018
    - 6.1.1 CNR Arbovirus IRBA
    - 6.1.2 CNR-LA-IPG
    - 6.1.3 CNR-LA-LR
  - 6.2 Publications et communications
    - 6.2.1 CNR Arbovirus-IRBA
    - 6.2.2 CNR-LA-IPG
    - 6.2.3 CNR-LA-LR
- 7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux**
  - 7.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 7.2 CNR-LA-IPG
  - 7.3 CNR-LA-LR
- 8. Programme d'activité pour les années suivantes**
  - 8.1 CNR Arbovirus-IRBA
  - 8.2 CNR-LA-IPG
  - 8.3 CNR-LA-LR

**Annexe 1 : Mission & Organisation du CNR**

**Annexe 2 : Capacités technique du CNR**

# 1. Missions et organisation du CNR

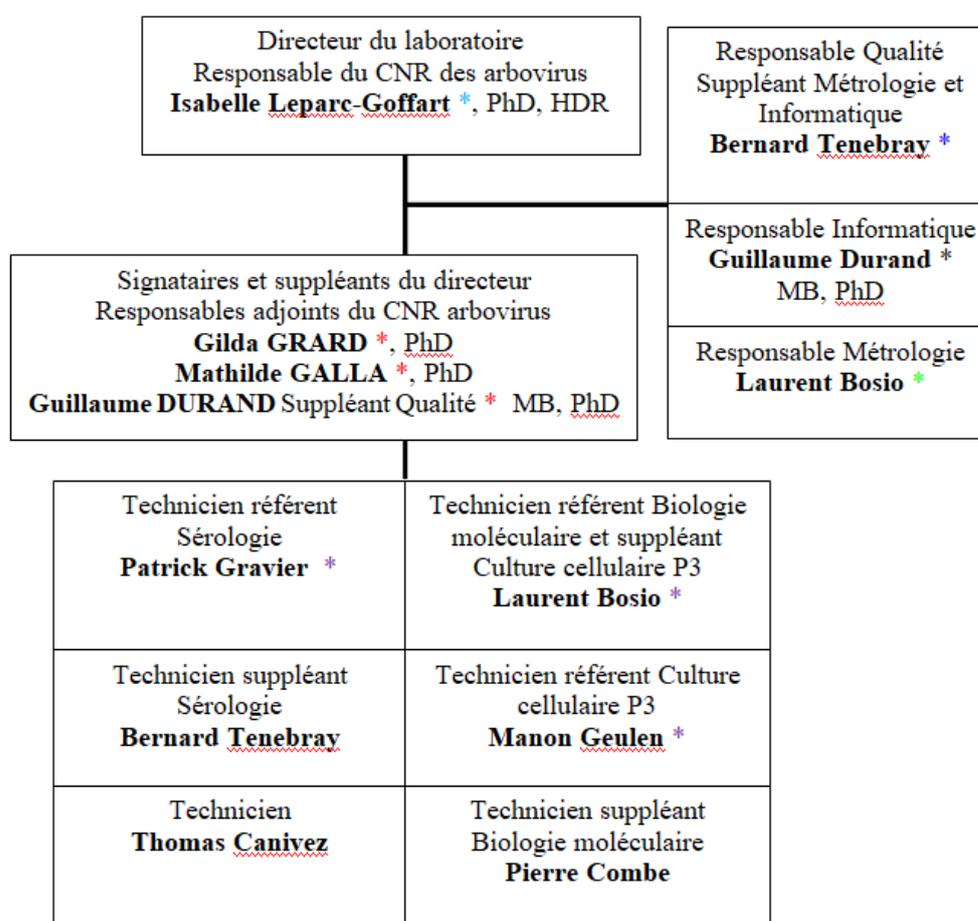
Les missions du CNR ont été définies dans l'appel à candidature de l'agence nationale de santé publique (Santé Publique France) du 19 juin 2016 et confiées par arrêté du 7 mars 2017, pour la période allant du 1<sup>er</sup> avril 2017 au 31 mars 2022, à :

- l'IRBA en tant que laboratoire coordonnateur
- à l'Institut Pasteur de Guyane localisé à Cayenne et au CHU de Saint-Denis à La Réunion en tant que laboratoires associés

Les missions du CNR Arbovirus n'ont pas évoluées au cours de l'année 2018 et sont rappelées dans l'Annexe 1.

## 1.1 CNR Arbovirus-IRBA (laboratoire coordonnateur)

### ➤ Organigramme



CNR : Centre National de Référence  
 PhD : Doctorat de Sciences  
 MB : Médecin biologiste  
 HDR : Habilitation à Diriger les Recherches

Fonctions-clés  
 Directeur du laboratoire : \*  
 Signataires : \*  
 Responsable qualité : \*  
 Responsable métrologie : \*  
 Responsable Informatique : \*  
 Technicien référent : \*

Figure 1. Organigramme de l'Unité des Arbovirus, IRBA.

La Figure 1 rappelle les personnels et l'organisation du laboratoire coordinateur CNR Arbovirus - IRBA Marseille, sous forme d'organigramme. Un nouveau cadre, le médecin biologiste Guillaume Durand, a rejoint l'équipe en octobre 2018. Le poste de secrétaire est resté vacant durant l'année 2018.

#### ➤ **Locaux et équipements de laboratoire**

Aucun changement majeur n'est intervenu dans le laboratoire coordinateur au cours de l'année 2018. Le descriptif est présenté en annexe 2.

Le laboratoire a néanmoins déménagé le 04 février 2019 vers les locaux de l'IHU Méditerranée-Infection situé dans le 5<sup>ème</sup> arrondissement de Marseille.

#### ➤ **Démarche Qualité et Aspects Règlementaires**

Le laboratoire a été accrédité par le COFRAC selon la norme NF EN ISO 15189 au 1<sup>er</sup> Janvier 2018 (8-4083). Sont accréditées en portée B (portée flexible) les analyses suivantes :

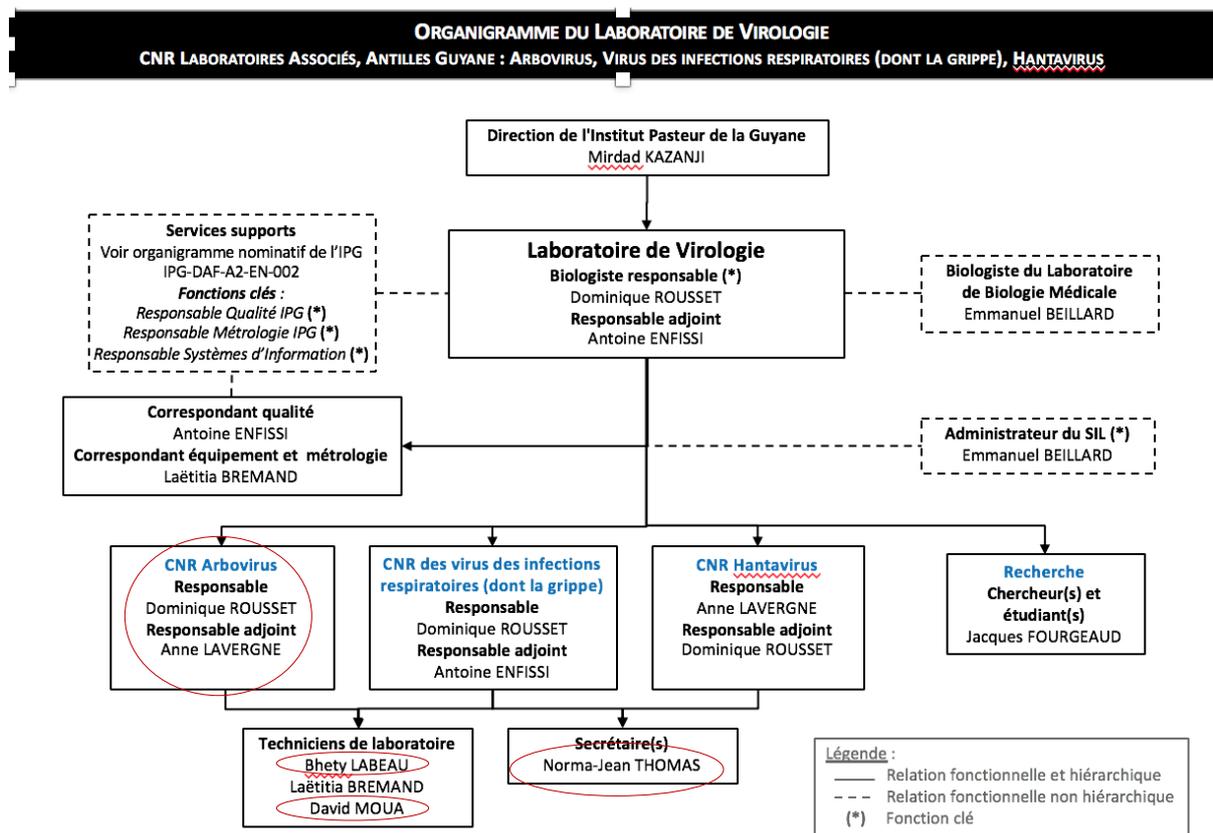
- détection du génome viral par qRT-PCR des virus Chikungunya et Dengue (sous-famille VIROH)
- détection des IgM et IgG anti-dengue et anti-Chikungunya par des techniques « maison » (sous-famille ISEROBM)

Ces analyses représentent 50% de l'activité diagnostique du laboratoire. La visite de surveillance S1 a eu lieu en septembre 2018 et les réponses fournies par le laboratoire fin décembre 2018 ont permis le maintien de l'accréditation du laboratoire selon la norme NF EN ISO 15189. Suite à notre déménagement, tous les documents nécessaires ont été transmis au COFRAC. L'audit interne réalisé suite à notre déménagement par deux auditeurs professionnels n'a mis en évidence aucun écart critique.

## **1.2 CNR-LA-IPG (CNR Laboratoire associé IP Guyane)**

#### ➤ **Organigramme**

Avec le départ début juillet 2018 de Séverine Matheus (PhD), responsable adjoint du CNR-LA-IPG, l'organigramme du CNR-LA-IPG a été modifié. Séverine Matheus a été remplacée par Anne Lavergne (PhD) (cf figure 2 et annexe 1).



**Figure 2.** Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane au 31/12/2018 (en rouge : CNR arbovirus -LA-IPG)

➤ **Locaux et équipements de laboratoire.**

Aucun changement majeur en 2018. Le descriptif est présenté en Annexe 2.

➤ **Démarche Qualité et Aspects Règlementaires**

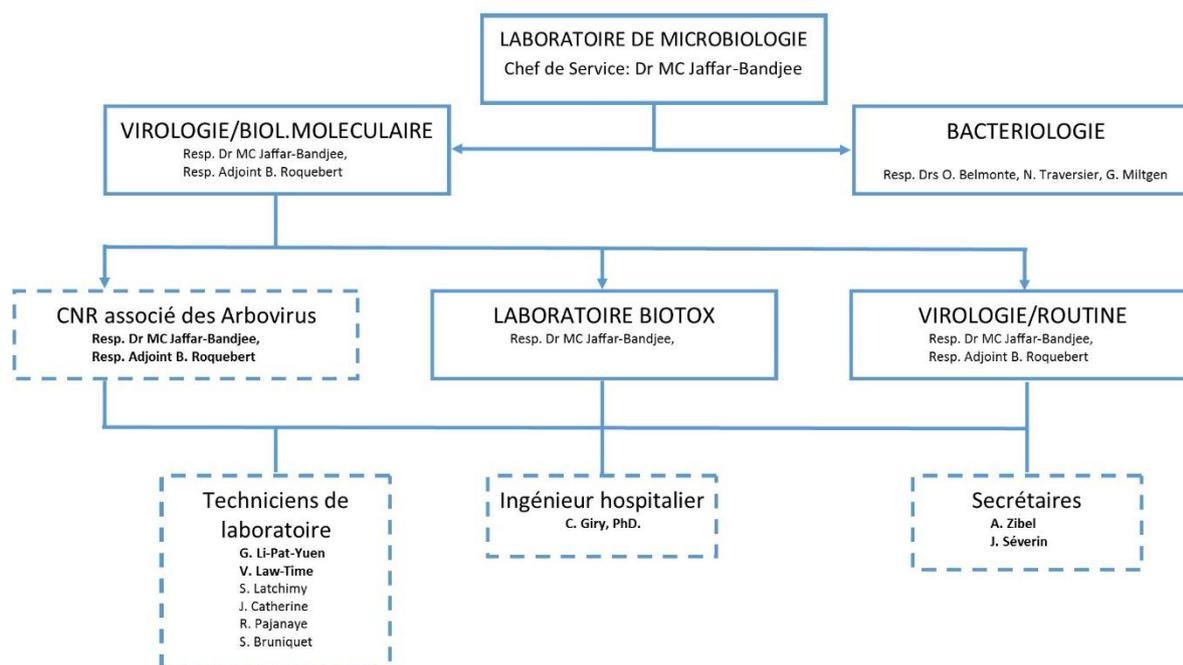
Le laboratoire de virologie qui héberge le LA-CNR-IPG, est accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du COFRAC sous le numéro 8-3373 depuis Nov. 2014 pour la version 2007 et depuis Nov. 2015 pour la version 2012 de cette norme (sous-famille concernée : microbiologie générale / portée A). A l'occasion de la visite de renouvellement en juillet 2018, le laboratoire a obtenu le maintien de cette accréditation ainsi qu'une extension du périmètre d'accréditation aux sous familles :

- VIROH pour les techniques de détection moléculaire (portée B flexible)
- et MICROBIOBM pour les techniques de sérologie arbovirus « maison » (portée B flexible)

**1.3 CNR-LA-LR (CNR Laboratoire associé La Réunion)**

➤ **Organigramme**

Il n'y a pas eu de modification majeur pour le CNR-LA-LR



**Figure 3.** Organigramme du laboratoire de microbiologie hébergeant le CNR arbovirus-LA-LR

Jaffar-Bandjee Marie-Christine, MD, PhD, Responsable : 0.3 ETP

Roquebert Bénédicte, Pharmacienne, MCU-PH, Responsable adjointe : 0.2 ETP

Giry Claude, Ingénieur : 1 ETP

Lee-Pat-Yuen Gislaine, Technicienne : 1 ETP

Law-Time Valérie, Technicienne : 1 ETP

➤ **Locaux et équipements de laboratoire.**

Fin octobre-novembre 2018 l'ensemble du pôle Laboratoire du CHU Félix Guyon a déménagé dans les nouveaux locaux du Bâtiment des Soins Critiques sur le même site. Le CNR Associé a intégré la plate-forme de biologie moléculaire de 200 m<sup>2</sup> qui comprend 2 blocs d'extraction/amplification de 42 m<sup>2</sup> chacun, une salle d'électrophorèse de 17 m<sup>2</sup>, une salle blanche, une salle de post-PCR de 14 m<sup>2</sup>, une sérothèque de 20 m<sup>2</sup>. La sérologie est réalisée dans une pièce de 12 m<sup>2</sup>.

Le nouveau laboratoire P3 sera livré en octobre 2019 en raison de travaux supplémentaires. L'ancien P3 restera fonctionnel jusqu'à la livraison du nouveau. Par ailleurs, le service de génétique est en cours d'acquisition d'une plate-forme de séquençage NGS, ce qui nous permettra dans le cadre de collaboration de réaliser sur place les études génomiques.

➤ **Démarche Qualité et Aspects Règlementaires**

Le laboratoire a été accrédité par le COFRAC selon la norme ISO 15189 pour 62% du total des analyses du pôle laboratoire (8-3832) en 2017. Le laboratoire a eu la visite de surveillance en avril 2018 avec 77% des analyses du pôle accrédités. La validation de méthode en portée B a

été réalisée pour la PCR multiplex chikungunya/dengue/leptospirose dans la famille Microbiologie /virologie et sera expertisée en avril 2019.

### **Contrôles qualité Externes CQE**

Nous avons participé au CQE Chikungunya/Dengue organisé par le réseau Sega (Réseau de Surveillance et d'Investigation des Epidémies) en décembre 2017- janvier 2018. Nous avons eu un score de 100% aux 3 épreuves de RT-PCR Chikungunya, dengue et typage de dengue.

## **2. Activités d'expertise**

Les techniques de référence, la liste des marqueurs épidémiologiques, les collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence disponibles ainsi que les conditions de stockage sont décrites dans l'annexe 2.

### **2.1 Évolutions des techniques**

#### **2.1.1 CNR Arbovirus-IRBA**

Rien à signaler en 2018.

#### **2.1.2 CNR-LA-IPG**

Mise en place de nouvelles techniques de séroneutralisation pour la mise en évidence des anticorps neutralisants les virus Chikungunya et les virus Mayaro par technique de microneutralisation en plaque 96 puits.

Mise en place d'une nouvelle technique moléculaire, qRT-PCR multiplex virus Rocio et virus Encéphalite de Saint-Louis.

#### **2.1.3 CNR-LA-LR**

Rien à signaler en 2018.

### **2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousses**

#### **2.2.1 CNR Arbovirus-IRBA**

Rien à signaler en 2018.

#### **2.2.2 CNR-LA-IPG**

Pas d'évaluation de kit en 2018.

#### **2.2.3 CNR-LA-LR**

Le CNR de la Réunion participera à l'étude DEMARE « Etude observationnelle des infections humaines du virus de la D'Engue sur deux îles de l'Océan Indien : MAdagascar et la REunion. » menée par le Dr Olga de Santis qui comprend l'évaluation d'un test NS1/IgM sur le sang (à définir), le sérum et les urines comparé à la RT-PCR. Ce projet est encadré par le Pr Antoine Flahault (Global Health Institute, Genève) et a obtenu un financement du Fond National Suisse pour la Recherche (N° 179532). Les modalités administratives sont en cours (CPP) et le projet devrait démarrer vers le mois de juin 2019.

## 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

### 2.3.1 CNR Arbovirus-IRBA

Rien à signaler pour 2018.

### 2.3.2 CNR-LA-IPG

Transfert des techniques moléculaires de détection et typage de la dengue ainsi que des techniques de détection de la Fièvre jaune à l'IP Guadeloupe

### 2.3.3 CNR-LA-LR

Rien à signaler pour 2018.

## 2.4 Collections de matériel biologique

### 2.4.1 CNR Arbovirus-IRBA

La collection de souches virales du CNR Arbovirus-IRBA a été enrichie de 14 isolats viraux en 2018. Le tableau 1 résume les données d'isolement en fonction de l'origine du prélèvement.

		DEN 1	DEN 2	DEN 3	CHIK
<b>Asie</b>	Thaïlande	1			1
	Singapour			1	
	Indonésie	1			
	Philippines			1	
<b>Afrique</b>	Sénégal		1		
	Congo				1
<b>Pacifique</b>	Polynésie Française	1			
	Nouvelle Calédonie		1		
<b>Caraïbes</b>	Haïti	2			
<b>Océan Indien</b>	La Réunion		1		
	Seychelles		1		
<b>Amérique Centrale</b>	Mexique	1			

**Tableau 1.** Souches virales isolées au CNR Arbovirus-IRBA en 2018.

Les ressources biologiques suivantes ont été distribuées par le CNR Arbovirus-IRBA :

- Pour l'EFS PACA : 4 ml de surnageant inactivé des virus Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3 et Dengue 4 destinés à la mise en place de tests DGV
- Pour l'EFS Occitanie : gammes de dilutions de virus Chikungunya, Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3, Dengue 4 et Zika. 10 sérums de patients positifs en RT-PCR Dengue. Ces ressources biologiques étaient destinées à l'évaluation des systèmes DGV de l'EFS.
- Pour le laboratoire de virologie du CHU de Toulouse : 1 aliquot de virus Toscana destiné à servir de contrôle positif pour leurs analyses diagnostiques.

## 2.4.2 CNR-LA-IPG

La collection de souches virales du CNR-LA-IPG a été enrichie en 2018 :

- 1 isolat de virus sauvage de fièvre jaune (cas détecté en août 2018)
- 3 isolats de virus Mayaro (obtenus à partir de prélèvements positifs de patients de l'île de Cayenne en 2017 et 2018).

Ressources biologiques distribuées par le CNR-LA-IPG : des sérums positifs en NS1 dengue ont été fournis au laboratoire du Centre Hospitalier André Rosemon (CHAR) pour le test de TROD destinés aux Centres de Santé délocalisés.

## 2.4.3 CNR-LA-LR

Collection de souches virales : 153 souches de dengues de l'épidémie de 2018 ont été isolées.

Cession de matériel via une MTA :

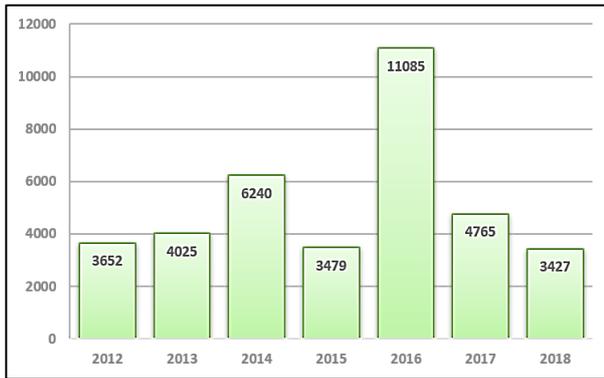
- A l'UMR PIMIT du Dr Patrick Mavingui :
  - o 23/03/2018 : 4 souches de dengue
  - o 06/06/2018 : 6 échantillons positifs en dengue
- A l'EFS dirigé par le Dr Hervé Renard :
  - o 17/04/2018 : 1 échantillon positif en dengue (1 ml)
  - o 16/07/2018 : 1 échantillon positif en dengue(1 ml)

## 2.5 Activités d'expertise

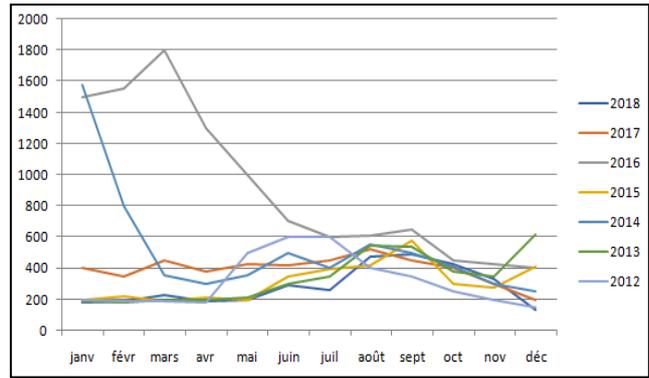
### 2.5.1 CNR Arbovirus-IRBA

#### ➤ Analyse globale

En 2018 le CNR Arbovirus-IRBA a reçu 3427 prélèvements, en cohérence avec le niveau d'affluence observé lors des années inter-épidémiques (2012, 2013 et 2015) (Figure 4). Environ 80% des prélèvements ont été adressés par les centres hospitaliers et les hôpitaux militaires (Tableau 2). 7% des prélèvements n'ont pas été analysés en raison de non conformités, d'erreur de prescription ou de destinataire (Tableau 3). Parmi les 3190 prélèvements analysés, 44% proviennent de cas autochtones et 54% sont associés à un séjour outre-mer (Tableau 4). Les investigations réalisées sur ces prélèvements comptent 22740 sérologies et 8877 PCR (tableau 3) soit en moyenne 7 sérologies et 3 PCR par prélèvement. 77% des prélèvements analysés par sérologie étaient négatifs.



A



B

**Figure 4.** Evolution du nombre annuel de prélèvements reçus au CNR coordonnateur Arbovirus-IRBA. (A) Nombre total de prélèvements reçus par années d'exercice. (B) Nombre de prélèvements reçus par mois, pour chaque années d'exercice.

Origine	Nb de prélèvements
<b>Autre</b>	222
<b>CH + CHU + HIA</b>	2742
<b>LABM</b>	379
<b>Non renseigné</b>	35

**Tableau 2.** Nombre de prélèvements reçus en fonction de leur provenance. CH = Centre Hospitalier ; CHU = Centre Hospitalier Unversitaire ; HIA = Hopital d'Instruction des Armées ; LABM = Laboratoire de Biologie Médicale ; Autre = Postes militaires, Greffes, Médecins Sans Frontière, etc.

Type d'analyse	Nombre de prélèvements	Nombre d'analyses
<b>Pas d'analyse</b>	237	
<b>Au moins 1 analyse réalisée</b>	3190	
<b>Sérologie ELISA</b>	2362	22744
<b>RT-PCR</b>	1992	8877
<b>Séroneutralisation</b>		370
<b>(RT-PCR+Sérologie)</b>	1166	
<b>Total de dossiers</b>	3427	

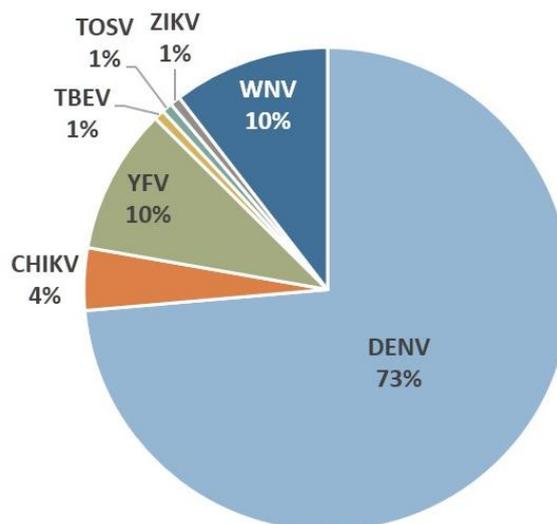
**Tableau 3.** Bilan du nombre de prélèvements reçus et d'analyses réalisées pour l'année 2018.

Notion de séjour	Nombre de prélèvements
<b>Non renseigné</b>	51
<b>Hors métropole</b>	1723
<b>Métropole (Corse incl.)</b>	1416

**Tableau 4.** Lieux de séjour associés aux prélèvements analysés par le CNR Arbovirus – IRBA.

- Prélèvements positifs par PCR

144 prélèvements ont été testés positif par PCR, soit un taux de positivité de 7.2 % sur les prélèvements analysés . 73% étaient positifs pour le virus de la dengue et 10% pour le virus West-Nile (Figure 5). Seuls 4% étaient positifs pour le virus Chikungunya. Exceptionnellement en 2018, 10% des prélèvements positifs en PCR l'étaient pour le virus de la fièvre jaune en raison du nombre de cas importés (Ccf ci-après) en début d'année et de prélèvements multiples d'un même patient dans le cadre de son suivi.



**Figure 5.** Virus identifiés par PCR

Le tableau 4 ci-dessous montre le nombre de prélèvements positif en PCR par virus et origine géographique (hors métropole et Corse).

	Dengue non typée	DEN 1	DEN 2	DEN 3	DEN4	CHIK	TBE	FJ	ZIK	WN
<b>Afrique</b>										
Angola										
Benin				1						
Cameroun		2								
Congo						3				
Côte d'Ivoire		1							1	
Gionée Conakry										
Kenya						1				
Maroc										
Mauritanie			1							
Niger		1								1
La Réunion			9							
Tunisie										1
Sénégal			1							
<b>Total Afrique</b>	0	4	11	1	0	4	0	0	1	2
<b>Asie</b>										
Asie du SE (sans précision)		1								
Bali				1						
Bengladesh			1							
Birmanie				2						
Cambodge		4	1							
Inde		1	1	4						
Indonésie				1						
Malaisie			1	2						
Philippines			2	1						

	Dengue non typée	DEN 1	DEN 2	DEN 3	DEN4	CHIK	TBE	FJ	ZIK	WN
Sri Lanka			3							
Thaïlande	2	10	7			2				
Vietnam		4	1							
<i>Total Asie</i>	2	20	17	11	0	2	0	0	0	0
<b>Caraïbes</b>										
Cuba	1									
Guadeloupe		3								
Haïti		3								
Saint Martin		7								
Republique Dominicaine										1
<i>Total</i>	1	13	0	0	0	0	0	0	0	1
<b>Amérique</b>										
Brésil								7		
Guyane								2		
Mexique		1								
Venezuela	1									
<i>Total Caraïbes</i>	1	1	0	0	0	0	0	9	0	0
<b>Pacifique</b>										
Nouvelle Calédonie			2							
Polynésie		7								
<i>Total Pacifique</i>	0	7	2	0	0	0	0	0	0	0
<b>Océan Indien</b>										
Maldives			1							
Seychelles			1							
<i>Total Ocean Indien</i>	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
<b>Moyen Orient</b>										
Arabie Saoudite				2						
<i>Total</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
<b>Inconnu</b>		1	3							
<i>Total par virus</i>	4	45	32	14	0	6	0	9	1	3

**Tableau 5.** Nombres de prélèvements positifs en PCR en fonction du lieu de séjour du patient (hors métropole et Corse)

➤ **Complications post-vaccination amarile**

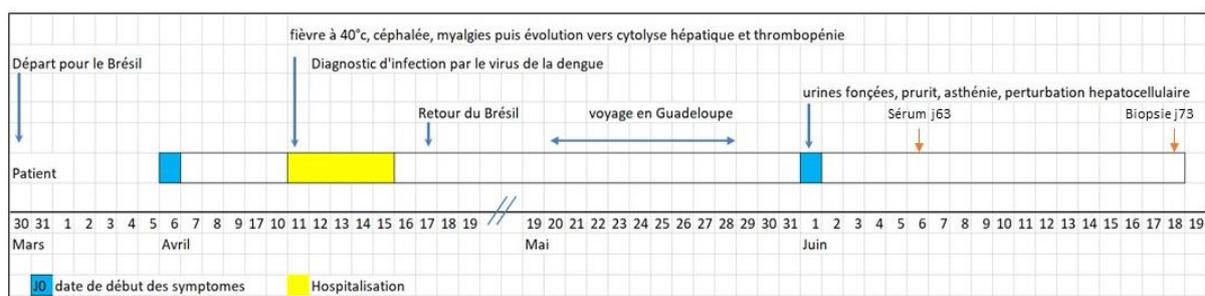
- Un cas de complication viscerotrope a été diagnostiqué au CHU de Nancy. Il s'agissait d'un patient de 37 ans sans antécédent, vacciné contre la fièvre jaune le 13/11/18, qui a présenté au décours une cholestase fébrile avec thrombopénie et exanthème morbilliforme. Nous avons retrouvé des PCR positives dans le plasma à J8 et J14, et dans les urines à J14 et J23. La PCR plasmatique s'est négativée à J23. L'évolution a été favorable.
- Un cas de complication neurologique a été diagnostiqué au CH de Saint Quentin, chez un homme de 49 ans présentant une méningo-encéphalite. Le plasma prélevé 25 jours

après la vaccination était positif en IgM et négatif en PCR. Le LCR prélevé 22 jours après la vaccination était positif en IgM et négatif en PCR.

### ➤ Cas de fièvre jaune importés

En 2018 le CNR coordonateur a confirmé le diagnostic de fièvre jaune pour 6 patients non vaccinés de retour du Brésil entre février et avril 2018. Le CNR Arbovirus-IRBA a également confirmé le cas de Fièvre de Jaune survenu en Guyanne et analysé par le CNR-LA-IP au paragraphe 4.2. Les cas importés du Brésil sont présentés ci-dessous :

- Les cas 1.JT et 2.LB ont été diagnostiqués par PCR dans le serum à J7 et J15 après le début des symptômes. On notera pour ces deux patients la contribution des urines également positives en PCR avec des charges virales plus élevées, et particulièrement à j22 pour le cas 2.LB alors que le sérum apparié s'était négativé.
- Les cas 3.AA , 4.PM et 5.CG ont été diagnostiqué par sérologie IgM et IgG. La séroneutralisation a permis de démontrer la spécificité des anticorps anti fièvre jaune et d'éliminer une infection par le virus de la dengue.
- Le cas 6.PG montre une évolution clinique extrêmement particulière (figure 6). La 1ère phase de la maladie débute au Brésil où il est hospitalisé du 11 au 15 Avril 2018. Le diagnostic de dengue est alors posé. Le patient évolue favorablement et ne présente plus aucun symptôme à son retour en France le 17 Avril. Il voyagera en Guadeloupe 5 semaines plus tard. La 2<sup>ème</sup> phase de la maladie débutera à 4 jours de son retour en métropole. Il se présentera aux urgences du CHU de Nice une semaine plus tard avec une cytolysse hépatique et cholestase ictérique. Nous sommes à 63 jours de la date de début des signes, la PCR est négative et la sérologie positive pour la fièvre jaune. Le diagnostic sera confirmé par séroneutralisation qui invalidera également les antécédents de dengue. La PCR fièvre jaune sera positive à partir d'une biopsie hépatique effectuée à 73 jours du début des symptômes. Le patient a évolué favorablement.



Urgences CHU: cytolysse hépatique & cholestase ictérique; transfert en service d'hépatologie & suspicion d'hépatite médicamenteuse

date	DDS	Echantillon	PCR	IgM ELISA	IgG ELISA	Anticorps neutralisants
08/06/2018	63	Sérum	Neg	YFV+/DENV-/WNV-	YFV+/DENV+/WNV limite	YFV+ DENV[1-4]-
09/06/2018	64	Sang total	Neg			
18/06/2018	73	<b>Biopsie hépatique</b>	<b>YFV+</b>			
		Sang total	neg			
		Urine	neg			

**Figure 6.** Evolution clinique et biologique du patient 6.PG lors de l'infection par le virus de la fièvre jaune.

Le CNR Arbovirus-IRBA a également confirmé le cas de Fièvre de Jaune survenu en Guyanne et analysé par le CNR-LA-IP au paragraphe 4.2.

➤ **Foyer de Dengue autochtone à Saint Laurent du Var**

Ce foyer a émergé en Septembre 2018 (Figure7). Nous avons confirmé le 1<sup>er</sup> cas de dengue autochtone par PCR le 04/10/2018, préalablement signalé par Biomnis. Il s'agissait du sérotype 2. Les investigations épidémiologiques et les enquêtes en porte à porte ont ensuite permis d'identifier 4 cas supplémentaires notamment grâce à l'utilisation de papiers buvards, papiers buvards mis au point par le laboratoire depuis de nombreuses années pour le diagnostic des arbovirus dans nos Forces sur le terrain des OPEX. Le cas primaire importé à l'origine de la transmission autochtone n'a pas été identifié.

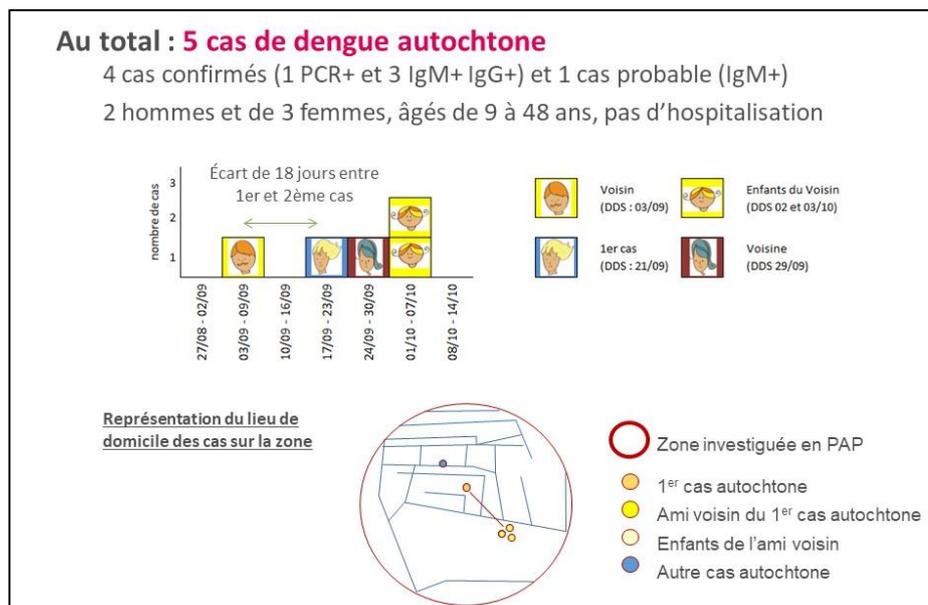


Figure 7. Description du foyer autochtone de Dengue 2 survenu à St Laurent du Var.

➤ **Foyers de dengue autochtone à Nimes et Clapiers**

Ces foyers ont également émergés en septembre 2018.

L'alerte pour le foyer de Clapiers a été donnée par le CHU de Montpellier avec une PCR dengue 1 positive chez un homme de 70 ans. Les résultats ont été confirmés par le CNR Arbovirus - IRBA. Les investigations épidémiologiques autour du cas ont permis de détecté le cas n°2 dans son voisinage, avec une PCR dengue 1 également positive.

Le foyer de Nimes a été identifié au CNR par une sérologie positive chez un patient domicilié à Nantes mais ayant séjourné à Nimes. La séroneutralisation a montré qu'il s'agissait d'une infection par le virus de la dengue serotype1 également. Les investigations épidémiologiques ont permis de retrouver la cas primaire, de retour de Polynesie avec une PCR dengue 1 positive.

L'existence de liens épidémiologiques entre les foyers de Nimes et Clapiers suggérait qu'ils étaient liés. Néanmoins le séquençage effectué au CNR au sein de l'UMR 190 Unité des Virus Emergents a permis de montrer en 2019 que les deux souches virales incriminées étaient différentes, et par conséquent que ces 2 foyers étaient indépendants.

### ➤ Circulation autochtone du virus West-Nile

Le CNR a diagnostiqué **26 cas humains** d'infection par le virus West-Nile entre juillet et novembre 2018. Il y a eu 7 formes neuro-invasives, 18 formes fébriles et 1 forme asymptomatique. En particulier un donneur d'organes a été diagnostiqué positif permettant de stopper partiellement le processus de greffe. Deux receveurs avaient néanmoins déjà reçu les greffons. Ils ont bénéficié d'un traitement antiviral préventif et d'un suivi très rapproché avec un prélèvement sanguin réalisé tous les 2 jours et envoyé au CNR Arbovirus-IRBA pour PCR et sérologie. Nous avons mis en place un système d'astreinte afin de réaliser les analyses immédiatement y compris les week-ends. Les deux receveurs sont restés négatifs en PCR et sérologie et leur évolution a été favorable.

Les Alpes Maritimes ont enregistré 21 cas d'infection par le virus West-Nile, les Bouches du Rhône 1 cas, le Vaucluse 1 cas, la Corse 2 cas et finalement un dernier cas a été enregistré dans les Pyrénées Orientales pour lequel une contamination au Maroc est également possible.

Des enquêtes rétrospectives ont été réalisées par le CNR auprès des CHU de Nice et d'Antibes. Les prélèvements de 91 patients présentant un syndrome neurologique ont été biologiquement investigués et se sont tous avérés négatifs pour le virus West Nile.

Très peu de données existent dans la littérature sur les signes cliniques des infections symptomatiques non neurologiques par le virus West Nile. Les enquêtes épidémiologiques menés par Santé Publique France montrent que les signes cliniques sont très variés avec une présence de fièvre dans seulement 67% des cas comme indiqué dans la figure ci-dessous.

Principaux signes cliniques décrits	NB	%
Fièvre	12	67%
Céphalées	16	89%
Asthénie	13	72%
Myalgies	13	72%
Arthralgies	9	50%
Lombalgies	5	28%
Cervicalgies	4	22%
Douleurs rétro-orbitaires	8	44%
Eruption cutanée	15	83%
Syndrome digestif	5	28%
Au moins un signe neurologique *	4	22%

\* Syndrome confusionnel, somnolence, syndrome méningé (raideur de la nuque, céphalées, vomissements, photophobie, phonophobie), diplopie, baisse de la vue, hypersensibilité de la peau

Le séquençage par l'ANSES d'un isolat d'origine aviaire (animal infecté collecté dans les Alpes Maritimes) a montré pour la première fois la circulation du lignage 2 du virus West-Nile en France métropolitaine, lignage circulant aussi en Italie. Néanmoins aucune séquence d'isolat humain n'est encore disponible.

### ➤ Circulation du virus TBE

#### • Cas autochtones

Au cours de l'année 2018, un nouveau cas neurologique d'infection par le virus TBE a été mis en évidence dans le département de Haute Loire, cas confirmé biologiquement en particulier par la détection d'anticorps spécifiques anti-TBE par séroneutralisation. Suite à la détection du premier cas en 2017 dans ce département, ce second cas en 2018 confirme une extension géographique de la zone à risque d'infection par le virus TBE.

Le CNR Arbovirus-IRBA a diagnostiqué et/ou confirmé par séroneutralisation 3 cas autochtones neurologiques d'infection par le virus TBE dans la région de Strasbourg (2 cas) et dans la région de Nancy (1 cas).

La circulation active du virus dans la région strasbourgeoise justifie la prise en charge depuis de nombreuses années de ce diagnostic par le CHU de Strasbourg. Le CHU a détecté 18 cas autochtones (comprenant les 2 cas confirmés par le CNR dans la région de Strasbourg) : 16 cas en Alsace (départements 67 et 68), 1 cas en Haute savoie et 1 cas en Savoie.

Le bilan final pour l'année 2018 comprend donc **20 cas autochtones** d'infection par le virus TBE en France métropolitaine.

- Cas importés

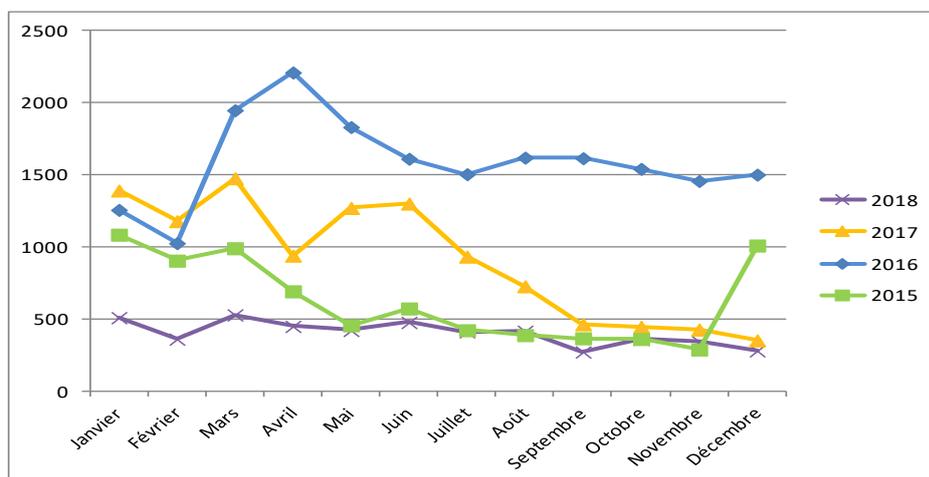
Le CNR a détecté et confirmé un cas importé de Croatie. Le CHU de Strasbourg a diagnostiqué 4 cas importés : Allemagne (2 cas) ; Pologne (1 cas) et Suède (1 cas).

## 2.5.2 CNR-LA-IPG

En 2018, le CNR Laboratoire Associé pour les arbovirus de l'Institut Pasteur de la Guyane, a reçu 4809 prélèvements pour expertise, diagnostic et/ou confirmation de diagnostic d'infection par un arbovirus. L'activité s'est maintenue tout au long de l'année à un niveau cohérent avec une activité de période inter-épidémique. Malgré une forte diminution du nombre de demandes de sérologie Zika observée par rapport à 2017, celles-ci sont restées importantes dans le cadre du suivi des infections en cours de grossesse. Parmi les sérologies réalisées, 5% des prélèvements présentaient encore, plus d'un an après la fin de l'épidémie, des IgM positives. Pour l'exploration des ces IgM positives, les recours étaient limités : la séroneutralisation qui ne permet pas de dater les infections n'a pas été utilisée cette année. Les tests IgA, dont la fenêtre de positivité est beaucoup plus limitée que celle des IgM, ont par contre parfois été utilisés notamment en cas de découverte d'IgM Zika positives en cours de grossesse sans antécédent sérologique connu. Tous les prélèvements testés en IgA se sont avérés négatifs. (Tableaux 6 à 9 et figure 8).

Activités	Nombre de prélèvements	Nombres d'analyses
Diagnostic/confirmation	4809	Virologiques (qRT-PCR) : 1312
		Sérologiques : 11990
IgA	48	IgA DENV 4 neg
		IgA ZIKV 45 neg
Isolement viral	29 mises en culture (cellules Vero + C6-36)	<u>4 isollements positifs</u> : -1 Fièvre jaune - 3 Mayaro (2 de 2017 et 1 de 2018)

**Tableau 6.** Bilan du nombre de prélèvements reçus et d'analyses réalisées en 2018 par le CNR-LA-IPG



**Figure 8.** Evolution du nombre mensuel de prélèvements reçus par le CNR-LA-IPG de 2015 à 2018

Les tableaux 7 à 9 présentent le détail des prélèvements reçus, en fonction de leur origine, ainsi que le nombre d'analyses virologiques et/ou sérologiques réalisées et les résultats obtenus.

ORIGINE	Total plvts reçus en 2018	Nbre de plvts testés							Résultats positifs
		PCR DEN/CHIK	PCR ZIKA	PCR YF	PCR WN	PCR Rocio/SLE	PCR TON	PCR MAY/ORO	
Guadeloupe	1	1							
Martinique	20	12			5	3	3	3	
Guyane	4788	397	359	6	10	134	143	236	
CH Cayenne	613	22	16	3	5	19	28	31	1 YF 1 CHIK 1 MAY
CH St Laurent	1396	51	60			23	23	47	1 MAY
Labo CH Kourou	36	4		1		1	1	3	
Labo Kourou	79								
Labo St Laurent	118		1					1	
Centres de Santé	797	4	4	1	1	5	5	6	
CMIA (Armées)	145	68	67			4	4	19	
Labos ile de Cayenne	1604	248	211	1	4	82	82	130	
<b>Total général</b>	<b>4809</b>	<b>410</b>	<b>359</b>	<b>6</b>	<b>15</b>	<b>137</b>	<b>146</b>	<b>239</b>	<b>4</b>

**Tableau 7.** Prélèvements reçus en 2018 en fonction de leur origine avec bilan des analyses virologiques réalisées et résultats de ces analyses (PCR simplex ou multiplex en fonction des cibles). DEN = virus Dengue, ZIKA = virus Zika, YF= virus de la Fièvre Jaune, WN = virus West Nile, SLE = virus de l'Encéphalite Saint Louis, CHIK= virus Chikungunya, TON= virus Tonate, MAY= virus Mayaro, ORO= virus Oropouche

ORIGINE	Total plvts reçus en 2018	Nb tests IgM "panel arbo"	Résultats sérologies IgM "panel arbo"									Nb plvts testés WN	IgM WN pos	Nb plvts testés SLE	IgM SLE pos	Nb plvts testés IgG Chik	Résultats	
			Neg	IgM DEN isol.	IgM YF isol.	IgM Flavi *	IgM TON isol.	IgM MAY isol.	IgM CHIK isol.	IgM alpha *	IgM Flavi + alpha *						Neg	Pos
Guadeloupe	1	1	1												1		1	
Martinique	20	2	2									1		4	2	1	1	
<b>Guyane</b>	<b>4788</b>	<b>1703</b>	<b>1518</b>	<b>34</b>	<b>91</b>	<b>15</b>	<b>99</b>	<b>7</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>12</b>	<b>9</b>			<b>1703</b>	<b>1294</b>	<b>409</b>	
CH Cayenne	613	300	262	8	15	3	18	3	5		1	3			300	213	87	
CH St Laurent	1396	95	81	3	2		8	1	2		0				95	64	31	
Labo CH Kourou	36	24	20		4	1	2		1		0	1			24	17	7	
Labo Kourou	79	1	1		1						0				1	1		
Labo St Laurent	118	83	70	1	7		7	2	1		2				83	58	25	
Centres de Santé	797	38	33	1	2		1	1	1	1	0				38	31	7	
CMIA (Armées)	145	84	79		16	2					3				84	80	4	
Labos ile de Cayenne	1604	1078	972	21	44	9	63		5	2	6	5			1078	830	248	
<b>Total général</b>	<b>4809</b>	<b>1706</b>	<b>1521</b>	<b>34</b>	<b>91</b>	<b>15</b>	<b>99</b>	<b>7</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>1706</b>	<b>1295</b>	<b>411</b>

**Tableau 8.** Prélèvements reçus en 2018 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques hors sérologies Zika réalisées et résultats de ces analyses.

DEN = virus Dengue, YF = virus de la Fièvre Jaune, Chik = virus Chikungunya, WN = virus West Nile, SLE = virus de l'Encéphalite Saint Louis

{IgM «x» isol.} : recense les prélèvements présentant des IgM anti«x» isolées

{IgM Flavi} : recense les prélèvements associant des IgM anti Dengue à des IgM anti Fièvre Jaune (YF).

{IgM alphav} : recense les prélèvements associant des IgM anti Chikungunya à des IgM dirigées contre d'autres alphavirus, IgM anti Tonate et/ou IgM anti Mayaro.

{IgM Flavi + alphav} : recense les prélèvements associant des IgM anti Flavivirus et anti alphavirus.

ORIGINE	Total plvts reçus	Sérologie Zika		
		Nbre Plvts testés	% IgM Pos	% IgG Pos
<b>Guadeloupe</b>	<b>1</b>			
<b>Martinique</b>	<b>20</b>			
<b>Guyane</b>	<b>4788</b>	<b>3446</b>	<b>5,3%</b>	<b>54,9%</b>
CH Cayenne	613	532	4,9%	55,1%
CH St Laurent	1396	1337	4,9%	64,8%
Labo CH Kourou	36	26	7,7%	30,8%
Labo Kourou	79	79	3,8%	70,9%
Labo St Laurent	118	34	11,8%	73,5%
Centres de Santé	797	778	6,3%	50,5%
CMIA (Armées)	145	66	1,5%	12,1%
Labos ile de Cayenne	1604	594	5,6%	40,6%
<b>Total général</b>	<b>4809</b>	<b>3446</b>	<b>5,3%</b>	<b>54,9%</b>

**Tableau 9.** Prélèvements reçus en 2018 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques Zika réalisées et résultats de ces analyses

En 2018, 4 infections par un arbovirus ont ainsi été identifiées dans le cadre des activités d'expertise du CNR-LA-IPG.

- 1 cas d'infection par un virus de la Fièvre Jaune (cas mortel détecté en juillet 2018) : cf Alerte § 4.2
- 1 cas d'infection par le virus Chikungunya : confirmation d'une PCR Chikungunya chez une patiente enceinte vue au Centre Hospitalier André Rosemon (CHAR) à Cayenne. L'investigation épidémiologique menée autour du cas a conclu à un lieu de contamination présumé situé à Oyapoque au Brésil (à la frontière avec la Guyane). Les résultats de l'analyse du séquençage du gène de l'enveloppe de ce virus sont présentés dans le § 2.6.2.- activités de séquençage.
- 2 cas d'infection par le virus Mayaro :
  - Un premier cas a été identifié en juin chez une patiente hospitalisée au CHAR pour un tableau de méningite virale. Le prélèvement de serum réalisé à J8 après le début des symptômes s'est avéré positif en IgM Mayaro et qRT-PCR Mayaro.
  - Un second cas a été identifié en novembre chez une patiente hospitalisée au CHOG (Centre Hospitalier de l'Ouest Guyanais) pour une Mort Fœtale in Utero à 15 semaines d'amenorrhée. La qRT-PCR Mayaro réalisée sur le serum de la mère a mis en évidence une charge virale élevée. Le séquençage du virus est en cours.

En 2018, le délai moyen de restitution des résultats a été de 1.91 jours ouvrables par rapport à la date de réception au laboratoire pour les analyses moléculaires et de 2.75 jours pour les analyses sérologiques (remarque : les analyses sérologiques « maison » sont réalisées sur 2 jours ouvrables). En cas d'urgence, le délai peut être restreint pour les analyses moléculaires à moins de 24h.

Le délai de restitution des résultats pour une séroneutralisation est par contre beaucoup plus long et extrêmement variable en fonction de la charge de travail du laboratoire : avec seulement 2 techniciens au CNR-LA-IPG, cette technique lourde reste difficile à réaliser et nécessite, le plus souvent, le recours à un technicien supplémentaire.

### 2.5.3 CNR-LA-LR

Jusqu'à la mi-mars, le CNR recevait tous les échantillons de RT-PCR dengue des LABM privés, LABM Cerballiance et jusqu'à la mi-avril tous ceux du LABM Réunionlab. Après ces dates, ces LABM ont réalisé les RT-PCR dengue. Nous réalisons toujours les RT-PCR dengue pour les établissements publics, le CHU, le Centre Hospitalier de l'Ouest CHOR et le Groupe Hospitalier de l'Est GHER, l'Etablissement Français du sang EFS ainsi que les typages. Le laboratoire du CHU sud réalise ses analyses ainsi que pour le LABM Lab Austral du sud. Le CNR Associé LA Réunion assure la réalisation des typages des prélèvements notamment ceux signalés par l'ARS.

	CHU Nord	CHOR	GHER	EFS	LABM privés	Total
RT-PCR dengue	580	742	299	51	2866	4538
RT-PCR chik	139	299	93		796	1327
Sérologie dengue	247	210	70		126	653
Sérologie chik	111	56	34		18	219

Les séries de RT-PCR dengue sont réalisées 1 à 2 fois par semaine, lors de la phase épidémique tous les jours du lundi au vendredi (de mars à avril).

Le CNR Associé LR a reçu un échantillon plasmatique du CH de Mayotte pour confirmer par RT-PCR le 1<sup>er</sup> cas de Fièvre de la Vallée du Rift (déc 2018).

## **2.6 Activités de séquençage**

### **2.6.1 CNR Arbovirus-IRBA**

Pour les besoins de séquençage, le CNR Arbovirus-IRBA a accès à une plateforme de séquençage NGS située au sein de l'UMR 190 Unité des Virus Emergents (Dr : Xavier de Lamballerie), que le CNR a officiellement rejoint depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2018. La plateforme est localisée à l'Université Aix-Marseille, sur le campus de la Timone. Elle utilise la technologie IonTorrent sur le séquenceur Ion S5™ System. L'UVE a également fourni son expertise en bio-informatique au CNR pour la reconstitution des contigs et l'analyse phylogénétique. Les séquences sont traitées avec le logiciel payant CLC genomicsWorkbench 11.0.1. Les analyses phylogénétiques sont faites à l'aide des logiciels open sources : Clustal W, MEGA, PHyML, RAxML et RecombinationDetection Program (RDP).

En 2018, les activités de séquençage NGS et d'analyse phylogénétique ont été utilisées pour la caractérisation de souches de dengue serotype 2 incluant celles circulant à La Réunion en 2018, en collaboration avec le CNR-LA-LR.

Nous avons aussi par cette activité montré que les cas de dengue autochtones de sérotype 1 à Clapiers et Nimes correspondait à 2 émergences indépendantes.

### **2.6.2 CNR-LA-IPG**

Le CNR-LA-IPG a un accès possible à la plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) de l'Institut Pasteur, qui est ouverte à l'ensemble des CNR ainsi qu'aux laboratoires de référence dans le Réseau International des Instituts Pasteur et instituts associés. Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M regroupe les demandes et permet ainsi l'utilisation en routine du séquençage à haut débit multi-pathogènes.

La technologie utilisée par cette plateforme de séquençage est la technologie illumina (fabrication des librairies + séquenceurs). Les banques sont préparées avec le kit Nextera XT et engagées sur le séquenceur NextSeq 500. Une série de matériels est également utilisée pour réaliser les contrôles de qualité tout au long du processus de fabrication de séquence. Des robots pipeteurs et extracteurs permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production.

Les CNR ont à l'heure actuelle la possibilité de faire appel à une expertise bio-informatique, en sollicitant les services supports en interne à l'Institut Pasteur. Ils ont actuellement accès aux bio-informaticiens du Centre de Bio-informatique, Bio-statistique et Biologie Intégrative (C3BI), qui qualifient et réalisent une analyse de premier niveau (contaminations, qualité, assemblage) sur les données sortantes. Ces bio-informaticiens peuvent également apporter leur aide aux CNR, pour le développement de méthodes de génotypage et d'autres pipelines d'analyses des séquences, y compris en cas d'épidémie.

Par ailleurs, dans le cadre de projets de recherche (voir § 6.1.2 FEDER EFAG), le CNR-LA-IPG prévoit, en collaboration avec le laboratoire « Interactions virus-hôtes » de l'IPG spécialisé dans cette activité, la réalisation de séquençage génomique de type WGS et NGS pour l'exploration

de fièvres d'étiologie indéterminée.

En 2018, les activités de séquençage réalisées dans le cadre des activités de Santé Publique et d'expertise du CNR, ont permis :

- Séquençage complet du virus Fièvre Jaune du cas mortel diagnostiqué en août 2018. Dans la région de l'enveloppe, ce virus présente 99.9% d'identité nucléotidique avec le virus de Fièvre Jaune responsable du cas mortel diagnostiqué en août 2017. Les analyses phylogénétiques montrent que ces 2 virus appartiennent à un lignage distinct de celui des virus responsables de l'épidémie observée au Brésil depuis 2016.
- Séquençage du gène de l'enveloppe du virus chikungunya détecté en septembre 2018 : le virus appartient au lignage ECSA (sans appartenir au lignage Ocean Indien dont il ne possède pas la mutation E1-A226V facilitant la transmission par l'*Aedes albopictus*). Il est donc distinct du lignage à l'origine de l'épidémie de 2014-2015 ; toutefois la séquence obtenue présente une identité nucléotidique de 100% avec les séquences de virus provenant de moustiques collectés en Haïti en 2016 (N° accession : MG000876.1 et MG000875.1) ou d'un cas humain au Brésil en 2014 (N° KP164570.1).
- Séquençage complet de 4 isolats de virus Mayaro parmi lesquels 3 virus détectés en 2017 et isolés en 2018. En période interépidémique pour les virus Dengue, Chikungunya et Zika, et avec la mise en place d'une nouvelle technique de détection moléculaire, le virus Mayaro a été l'arbovirus le plus fréquemment détecté en Guyane sur les 2 dernières années. (3 positifs détectés parmi 142 prélèvements de 2017 testés et 2 positifs parmi les 239 prélèvements de 2018 testés).

### 2.6.3 CNR-LA-LR

En lien avec le CNR coordonnateur, une étude génomique sur 5 souches de dengue 2 est en cours de finalisation. Les séquences ont été réalisées en collaboration sur la plateforme de l'UMR UVE. Un article est en cours.

Développement prévu en collaboration avec le service de génétique qui est en cours d'acquisition d'une plateforme NGS afin de mettre en place le séquençage viral.

## 3. Activités de surveillance

Dans les TFA (territoires français des Amériques), après une succession d'épidémie et émergences quasi ininterrompues de 2012 à 2016, une situation inter-épidémique est observée depuis 2017. L'année 2018 a été marquée par une absence de cas confirmés d'infection par les virus Dengue, Chikungunya et Zika à l'exception de quelques foyers de dengue détectés au cours du dernier trimestre en Guadeloupe (18 cas confirmés dont 5 sérotypes 1) et à Saint Martin (10 cas confirmés / dont 6 sérotypes 1) ainsi que d'un cas importé de Chikungunya en Guyane en septembre. L'année 2018 a également été marquée en Guyane par la détection d'un nouveau cas mortel d'infection par le virus Fièvre Jaune en août, ainsi que de cas sporadiques d'infection à virus Mayaro. En France métropolitaine, 3 foyers de dengue ont été détectés et contenus. Une circulation accrue du virus West-Nile a été enregistrée avec 26 cas humains. Un nouveau foyer de circulation du virus TBE a été mis en évidence en Haute-Loire. Un nombre accru de cas importés de Fièvre Jaune a été enregistré en début d'année.

### 3.1 Description du réseau de partenaires

#### 3.1.1 CNR Arbovirus-IRBA

Le CNR Arbovirus-IRBA a développé avec Santé Publique France un réseau de laboratoires participant à la surveillance annuelle et regroupant les LABM Biomnis et CERBA, ainsi que des laboratoires hospitaliers répartis sur tout le territoire français et permettant ainsi une bonne couverture globale (Figure 9). Le CNR Arbovirus-IRBA et Santé publique France organise une réunion annuelle avec le réseau de laboratoire au mois d'avril, réunion permettant de nombreux échanges scientifiques et stratégiques.

**Figure 9.** Répartition des laboratoires hospitaliers (★) du réseau de surveillance Arbovirus sur le territoire français (métropole).



La surveillance des arboviroses en métropole repose sur les interactions étroites entre le CNR, le réseau de laboratoires, les Agences Régionales de Santé et leurs CIRE associées.

D'après le plan anti-dissémination Chikungunya, Dengue et Zika (CDZ), le CNR n'est plus en première ligne pour le diagnostic de ces arboviroses. Celui-ci est réalisé par les laboratoires du réseau grâce à la mise à la nomenclature des analyses moléculaires et sérologiques pour le diagnostic de la Dengue, Chikungunya et de l'infection Zika, le CNR Arbovirus-IRBA se positionnant en seconde ligne pour un diagnostic de confirmation et d'expertise : diagnostics d'autres arboviroses (West-Nile, TBE, Fièvre Jaune, Encéphalite Japonaise, Mayaro, Toscana, Fièvre de la Vallée du Rift notamment), sur des matrices alternatives au sérum/plasma (LCR, urines, sperme, biopsie, etc), confirmation de cas suspects par séroneutralisation, sérologies et séroneutralisations Zika pour le suivi des femmes enceintes exposées et de leurs nouveaux nés.

### 3.1.2 CNR-LA-IPG

#### ➤ Description des partenaires

Dans les DFA, la surveillance des arboviroses repose sur une surveillance menée en partenariat avec les CIRE Antilles et Guyane en collaboration aux Antilles avec les laboratoires hospitaliers, l'Institut Pasteur de Guadeloupe ainsi que les laboratoires privés et en Guyane avec les laboratoires hospitaliers, les laboratoires privés ainsi que les Centres Délocalisés de Prévention et de Soins (CDPS).

Le CNR-LA-IPG, en lien avec les ARS et CIRE concernées, participe à l'investigation des cas selon les modalités définies par les plans de lutte contre ces virus, en vigueur dans les DOM de la région : PSAGE (Programme de Surveillance, d'Alerte et de Gestion des Epidémies) - Dengue élargi aux virus Chikungunya et Zika.

#### ➤ Répartition par type d'activités

L'introduction à la nomenclature des actes de biologie médicale des diagnostics sérologiques et surtout moléculaires des virus Dengue, Chikungunya et plus récemment Zika a largement contribué à la mise en place de ces techniques au sein de nombreux laboratoires hospitaliers mais aussi privés des Antilles et de Guyane réduisant d'autant le recours au CNR-LA-IPG pour les demandes de diagnostic biologique de première intention. Parallèlement le nombre de demandes de confirmation de détection positive pour un arbovirus est resté très faible pour cette année inter-épidémique pour les arbovirus sur les Antilles comme la Guyane.

Les prélèvements reçus par le CNR-LA-IPG ont ainsi majoritairement concerné :

- des demandes de diagnostic sérologique Zika : Malgré une forte diminution de la demande (plus de 60% de réduction), la demande de sérologie Zika auprès du CNR-LA-IPG est restée importante (n= 3446) notamment dans le cadre du suivi des infections par le virus Zika chez les femmes enceintes. En effet compte tenu des gros défauts de performance des tests commerciaux (défauts de sensibilité pour les tests Euroimmun et défauts de spécificité pour les tests Diapro) les laboratoires hospitaliers du CHAR et du CHOG n'ont pas souhaité pour l'instant mettre en place ce diagnostic.
- des demandes de diagnostic sur des prélèvements particuliers (LCR, urines, sperme...).
- des demandes d'expertise pour la confirmation et/ou vérification de résultats :
  - En cette période inter-épidémique, les rares détections positives adressées au CNR pour confirmation ont majoritairement été infirmées par le CNR, ce qui est cohérent avec une diminution de la Valeur Prédictive Positive des tests régulièrement observée en période interépidémique.
  - Cela a été le cas pour des demandes de contrôle en provenance de Martinique (IgM Dengue en Mars et NS1 dengue en avril), ou encore pour des demandes de contrôle en provenance de Guyane (PCR Dengue en avril puis PCR Zika et PCR Chikungunya en mai)
  - Nous avons parallèlement confirmé à la demande du laboratoire de virologie du CHU de Martinique, la négativité de la dengue sur des prélèvements d'enfants présentant des tableaux cliniques qualifiés de très évocateurs de dengue.
  - Nous avons également confirmé un diagnostic moléculaire d'infection par le virus

Chikungunya réalisé par le CHAR (cf §2.5.2).

- Ou encore des demandes de diagnostic spécifiques : pour les virus Tonate, Mayaro, West Nile, Encéphalite Saint Louis ou encore Fièvre Jaune. Ces demandes proviennent principalement des Centres Hospitaliers : des Antilles mais surtout de Guyane (et en particulier de l'Unité de Maladies Infectieuses et Tropicales du CHAR)

### 3.1.3 CNR-LA-LR

#### Partenaires :

- Equipe de la CIRE Océan Indien avec transmission par Fax automatisée de tous les résultats positifs ainsi que de la feuille de renseignement.
- Les établissements hospitaliers de l'ouest (CHOR) et de l'Est (GHER)
- Les LABM privés Réunilab, Cerballiance, Lab Austral
- Membres du réseau SEGA de l'Océan Indien

Nous participons au groupe de travail avec la CIRE-OI, les professionnels de santé publique et privés. Le CNR associé intervient en tant que membre expert au sein du réseau SEGA (Surveillance des Epidémies et Gestion des Alertes) de l'Océan Indien. Il participe aux Comités de pilotage 1 à 2 fois par an.

Le système de surveillance des arboviroses à l'île de la Réunion repose sur le signalement à la Cire océan Indien (Cire OI, antenne régionale de l'InVS) par les laboratoires de tout résultat biologique compatible avec une infection récente par le virus du chikungunya ou de la dengue (RT-PCR positive ou présence d'IgM spécifiques). Chaque signalement entraîne une investigation épidémiologique réalisée conjointement par la CIRE et la lutte anti-vectorielle (LAV) de l'ARS Océan Indien et la mise en place de mesures de gestion. Le CNR associé est un acteur majeur de ce système de surveillance : d'une part, il est amené à signaler des résultats positifs au même titre que les autres laboratoires ; d'autre part, il est régulièrement sollicité par la Cire OI pour des examens complémentaires (typage) ou des analyses chez les sujets symptomatiques retrouvés dans le cadre de la recherche active autour des cas.

Nous participons à la rétro-information auprès des professionnels de santé et de l'ensemble du réseau régional de santé publique par l'envoi régulier d'un bulletin épidémiologique bimensuel.

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

### 3.2.1 CNR Arbovirus-IRBA

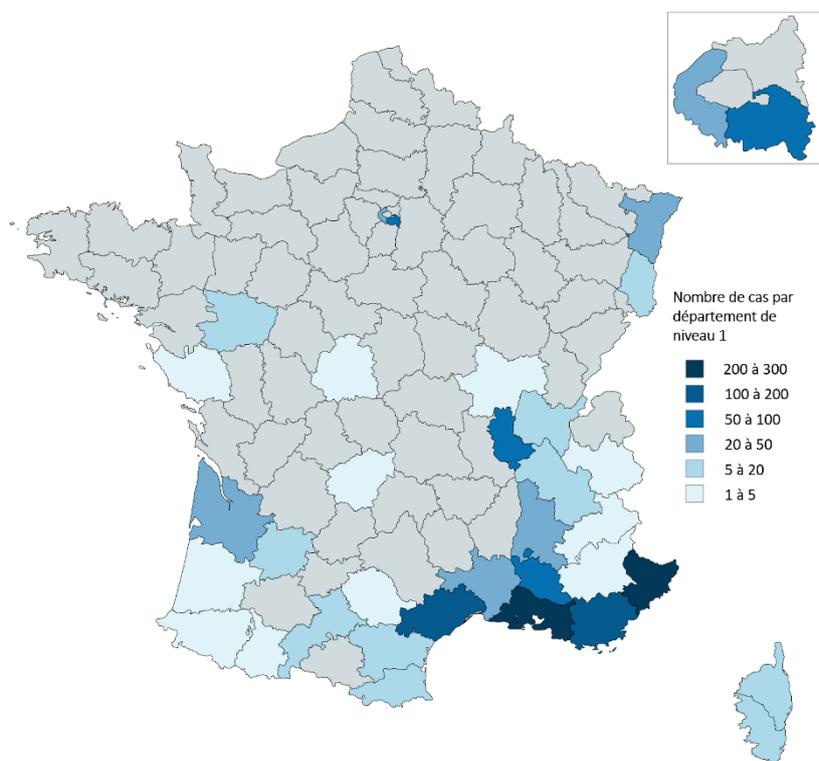
#### ➤ **Plan anti-dissémination Chikungunya, Dengue et Zika (CDZ) – France Métropolitaine**

La surveillance en France métropolitaine met l'accent sur les arbovirus potentiellement transmissibles sur le territoire par le moustique tigre (*Aedes albopictus*) : Chikungunya, Dengue et Zika. Un signalement des cas importés est transmis par le CNR Arbovirus-IRBA de manière sécurisée et hebdomadaire au département des Maladies Infectieuses de SPF (hors période de surveillance renforcée). Lors de la détection d'un phénomène anormal, le CNR contacte immédiatement son correspondant à Santé Publique France.

En période de surveillance renforcée (Mai-Octobre), le CNR Arbovirus-IRBA est en contact étroit et constant avec les ARS et CIREs associées pour le signalement et le suivi des cas importés/autochtones suspects, probables et confirmés, via l'utilisation du portail unifié Voozanoo

de SPF (enquêtes de suivi des cas Voozarbo).

En 2018, le CNR Arbovirus-IRBA a reçu 1377 prélèvements dans le cadre de la surveillance renforcée CDZ du mois de Mai au mois d'Octobre (inclus), pour les départements d'implantation du moustique *Aedes albopictus* (départements de niveau 1). La répartition de la provenance de ces prélèvements est illustrée dans la figure 10.



**Figure 10.** Origine des prélèvements reçus par le CNR Arbovirus-IRBA en provenance des départements de niveau 1 pendant la période de surveillance renforcée, de Mai à Octobre 2018.

Pendant cette période, le CNR Arbovirus-IRBA a participé au diagnostic et à la confirmation par RT-PCR de 51 cas importés d'infection par le virus de la Dengue, dont 28 dans les départements de niveau 1, et de 4 cas importés d'infection par le virus Chikungunya dont 1 en département de niveau 1. Un cas de Zika importé de Côte d'Ivoire

La description des foyers de dengue autochtone est au paragraphe 2.5.1

### ➤ **Plan de surveillance du virus West-Nile - France métropolitaine**

La surveillance du virus West-Nile s'étend de Juin à Novembre, et concerne les départements du pourtour méditerranéen. Les échantillons de LCR clair provenant de patients adultes (>15 ans) hospitalisés et présentant un état fébrile avec manifestations neurologiques sans étiologie identifiée sont transmis au CNR Arbovirus-IRBA pour analyse. Le CNR informe l'ARS et Santé Publique France en cas de résultats positifs via le portail Voozadoo et communication directe.

En 2017 et 2018, cette surveillance n'a pas permis la mise en évidence de cas sévères de fièvre à virus West-Nile. Au cours de ces deux années les 1ers cas d'infections à virus West-Nile ont été détectés grâce à la surveillance CDZ et l'investigation des sérocroisements dengue/West-Nile systématique au CNR Arbovirus-IRBA, montrant les limites de la surveillance saisonnière du fait de la seule prise en compte des cas sévères neurologiques. Les résultats de la surveillance

West-Nile 2018 sont au paragraphe 2.5.1. Par ailleurs le CNR-Arbovirus IRBA effectue tout au long de l'année la surveillance des infections par le virus West-Nile.

La surveillance des autres arboviroses d'intérêt se fait au fil de l'eau et toujours en lien avec les ARS et CIRE en région pour la détection de cas et leur suivi.

### 3.2.2 CNR-LA-IPG

La surveillance des arbovirus aux Antilles et en Guyane porte en priorité sur la circulation des virus Dengue, Chikungunya et Zika. Cette surveillance est essentiellement réalisée au moyen d'outils moléculaires qui permettent un diagnostic de certitude.

Dans les TFA (territoires français des Amériques), après une succession d'épidémies et émergences quasi ininterrompues de 2012 à 2016, une période inter-épidémique est observée depuis 2017. En 2018 comme en 2017, la surveillance n'a pas permis de mettre en évidence de circulation significative des arbovirus Dengue, Chikungunya et Zika à l'exception de la détection au cours du dernier trimestre de quelques foyers de Dengue en Guadeloupe et à Saint Martin. 18 cas de Dengue ont ainsi été confirmés en Guadeloupe entre les semaines 41 et 52 parmi lesquels 5 ont été sérotypés : tous Dengue 1, tandis que 9 cas étaient confirmés à Saint Martin ( semaine 44 à 52) parmi lesquels 6 sérotypés Dengue 1.

Un cas importé de Chikungunya a également été confirmé en Guyane en septembre.

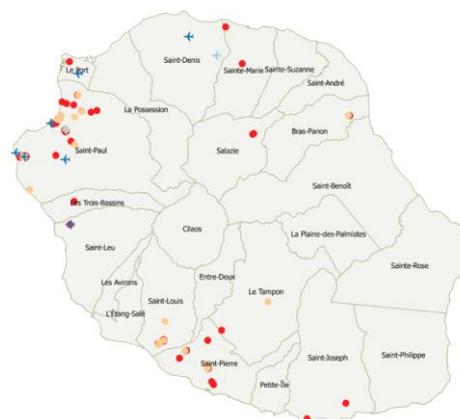
Parallèlement à cette surveillance, un échantillonnage des prélèvements reçus a été testé pour d'autres arbovirus permettant la détection de 2 cas d'infection par le virus Mayaro (2 positifs / 232 prélèvements testés). Ces détections s'ajoutent aux 3 virus Mayaro détectés parmi 142 prélèvements de 2017 testés retrospectivement et viennent confirmer, la circulation endémique de ce virus en Guyane.

### 3.2.3 CNR-LA-LR

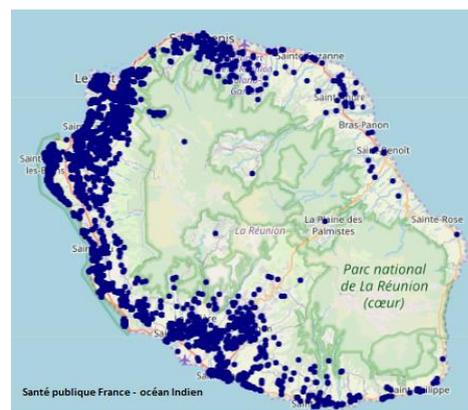
Au vu de la persistance de la circulation de dengue à bas bruit durant l'hiver austral, plusieurs réunions de la Cellule de vigilance Dengue se sont tenues sous la Direction du CHU et de l'ARS et réunissant les 2 établissements du CHU Nord et sud, et le GHER , afin de se préparer à l'épidémie de dengue avec proposition de scénarios en fonction du niveau de l'épidémie : 4 septembre, 24 septembre et 13 décembre 2018.

#### ➤ Description de l'épidémie de la Réunion

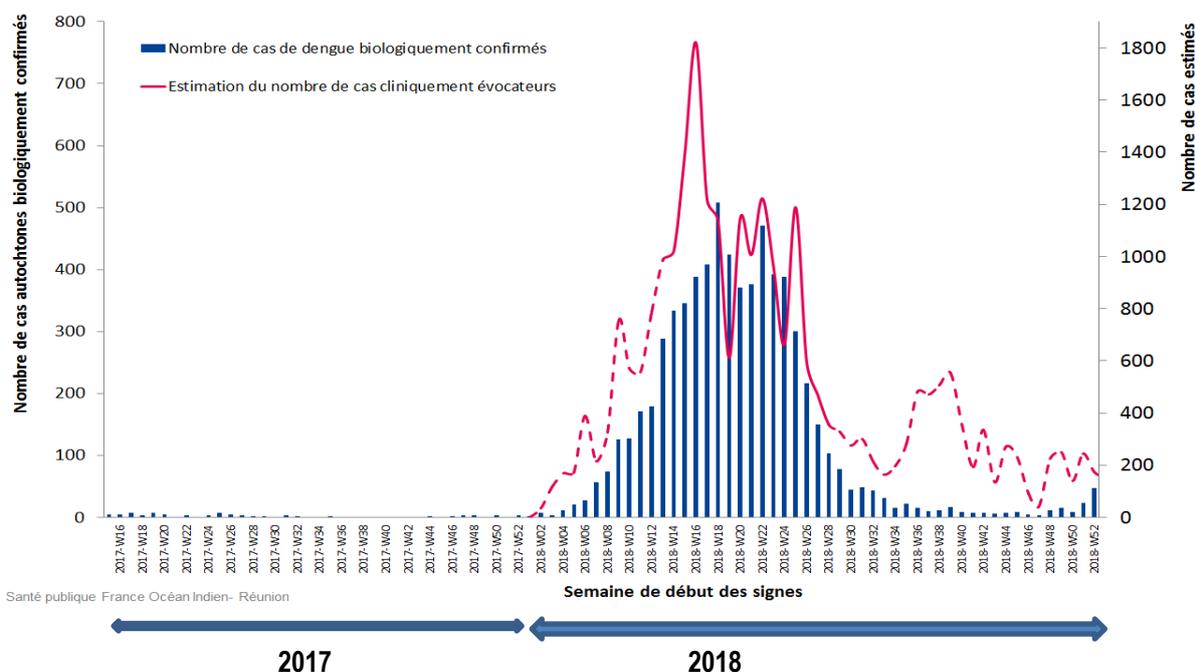
**2017.** De façon inhabituelle, l'année 2017 a été marquée par le maintien d'une circulation virale persistante durant toute l'année, et surtout durant l'hiver austral, avec 94 cas autochtones et 9 cas importés. Les 2 principaux foyers étaient sur la côte ouest Saint-Paul et Saint -Gilles-les -bains, et dans le sud à Saint-Pierre (Figure Santé Publique France). Après une circulation presque absente entre la semaine 37 et 44 (2 cas), les cas réapparurent à partir de la semaine 45 avec 1 à 4 cas par semaine.



**2018.** L'année 2018 a démarré avec la poursuite et très vite l'augmentation des cas de dengue dans les mêmes endroits qu'en 2017, à Saint-Paul à Saint-Gilles-les –Bains et Saint-Pierre. Et de proche en proche, l'épidémie s'est étendue à partir du mois de mars à toute la région nord-ouest (Rivière des Galets, Plateau Caillou, la Possession, le Port, Saint-Leu) et au sud l'extension vers la région du sud-ouest ( le tampon, Bois d'Olivés, Les Avirons), pour ensuite concerner e façon moins importante la région du nord (Saint-Denis, Sainte-Marie, la Montagne). La reprise de l'épidémie a montré 2 nouveaux foyers au sud (la Rivière Saint-Louis et Saint-Louis) où 2019 verra le nombre de cas exploser dans ces 2 régions.



Au total, l'épidémie a comptabilisé 6763 cas de dengue biologiquement confirmés ou probables dont 11 cas importés. Tous les cas autochtones étaient de type 2. 149 cas de dengues ont été hospitalisés dont 25 pour dengue sévère. Six cas de décès ont été rapportés, 3 liés directement à la dengue et 3 liés indirectement à la dengue (terrains avec comorbidités).



➤ **Activités du CNR Associé Réunion LR**

	CHU Nord	CHOR	GHER	EFS	LABM privés	Total
RT-PCR dengue	580	742	299	51	2866	4538
RT-PCR chik	139	299	93		796	1327
Sérologie dengue	247	210	70		126	653
Sérologie chik	111	56	34		18	219

Parmi les 4538 PCR dengues réalisés, 938 typages de dengue distribués sur l'ensemble du territoire ont été réalisés. Toutes les dengues autochtones relevaient du DENV-2. Nous avons enregistré 3 DENV-1 importées de Thaïlande et 2 DENV-3 importées d'Inde.

La sérologie dengue a retrouvé 52 sérums avec des IgM + et IgG-, et 86 sérums IgM+ et IgG+.

Le CNR Associé LR a aussi réalisé des sérologies et RT-PCR Zika (RealStar Altona) notamment pour des couples ayant voyagé dans des pays d'endémie Zika :

- 20 RTPCR Zika dans le plasma, une dans le sperme (toutes négatives).
- 7 sérologies Zika pour l'étude du statut immunologique des patients (toutes négatives)

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

Non applicable

### **3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux**

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France et les CIRE: au travers de l'envoi hebdomadaire par fichier sécurisé des résultats de surveillance Chikungunya, Dengue et Zika en métropole et en Guyanne, mais aussi l'envoi au fil de l'eau dès la détection d'une infection par un arbovirus rare (exemple fièvre de la Vallée du Rift).

Ces différents types de recueil de données font l'objet de "Points Epidémiologiques Périodiques", mensuels ou hebdomadaires en fonction du contexte épidémiologique. Ces bulletins de rétro-information sont édités par les Cires en collaboration avec les différents partenaires impliqués. Ils sont disponibles sur le site Internet de Santé Publique France (SPF) et permettent d'assurer une rétro-information auprès des différents professionnels de santé du département, des DFA, de SPF et de la DGS, tout en faisant le point sur la situation épidémiologique du moment.

L'interface avec les pays de la zone Océan au sein du réseau SEGA permet au CNR-LA-LR de croiser les informations. Le seul pays concerné en 2018 par le dengue était les Seychelles. L'épidémie a débuté fin 2015 avec le sérotype DENV 2 prédominant, puis ensuite début 2018 les 3 sérotypes DENV1, DENV2 et DENV3 cocirculaient, avec une proportion plus importante de DENV. Diminution du nombre de cas amorcé début avril.

### **3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance**

#### **3.5.1 CNR Arbovirus-IRBA**

Estimation de l'incidence du virus Zika chez les voyageurs Français de retour d'Amérique Latine et des Caraïbes durant l'été 2016 – Cohorte ZikAmerica. Partenariat CHU Bordeaux.

Nos partenaires du CHU de Bordeaux ont effectué le recrutement, le suivi des patients et les tests diagnostiques de 1ere intention : RT-PCR Zika et sérologies IgM / IgG avec le kit EuroImmune pour les virus Dengue, Zika et Chikungunya. Le CNR a effectué les sérologies avec les tests ELISA IgM/IgG maison utilisant comme antigène du virus entier inactivé. Le cas échéant le CNR a effectué les sérologies EuroImmune manquantes. Lors de résultats discordants et/ou de cas cliniques particuliers le CNR a effectué les explorations complémentaires par séroneutralisation.

**Avancement.** Soixante-quinze voyageurs ont été inclus dans l'étude et trente-huit ont rapporté des symptômes. La date médiane de prélèvement des patients était de 45 jours après le retour

en France. Tous les participants étaient négatifs en IgM. Quatre participants étaient positifs en IgGEuroImmune. Deux d'entre eux, par ailleurs négatifs avec l'ELISA du CNR, ont été infirmés par séroneutralisation. Les deux autres cas, dont l'un avec des résultats sérologiques discordants, ont été confirmés par séroneutralisation. Un 5<sup>ème</sup> cas dont les analyses sérologiques étaient négatives ou en limite d'interprétation selon le test utilisé a finalement été confirmé par séroneutralisation. Le taux d'incidence final a été estimé à 4.4 cas pour 100 personnes/mois.

Les résultats ont été présentés lors du congrès « International Symposium on Zika virus Research » à Marseille le 04-06 Juin 2018.

#### Enquête épidémiologique des syndromes neurologiques dans les centres Hospitaliers de Nice et Antibes :

Cette enquête a été mise en œuvre par le CNR Arbovirus-IRBA suite à la mise en évidence de la circulation du virus West-Nile à Nice. Voir résultats au chapitre 2.5.1.

### **3.5.2 CNR-LA-IPG**

Participation du CNR-LA-IPG à un projet de recherche portant sur l'étude de la séroprévalence des arboviroses prioritaires en Guyane : Projet FEDER EPI-Arbo : « Séro-épidémiologie des arboviroses prioritaires en Guyane », cf § 6.1.2 FEDER EPI-Arbo.

### **3.5.3 CNR-LA-LR**

Rien à signaler.

## **4. Alerte**

### **4.1 CNR Arbovirus-IRBA**

Les épisodes d'alertes Dengue, West-Nile, fièvre jaune sont traités dans la section Expertise 2.5.1. Aucune alerte Chikungunya ou Zika n'a été enregistrée.

### **4.2 CNR-LA-IPG**

#### **Détection d'un nouveau cas de Fièvre jaune en août 2018**

Le 08/08/2018, le CNR a reçu une demande du service de réanimation du CHAR pour un diagnostic de fièvre jaune chez un patient présentant un tableau de défaillance hépatique et rénale. Le patient de nationalité suisse, âgé de 40 ans et non vacciné contre la fièvre jaune, séjournait depuis 4 mois en Guyane, à environ 40 km de Cayenne. Il présentait depuis le 4 août un tableau clinique à type de Dengue associant fièvre et myalgies. Le 07/08/2018, devant l'aggravation de son état, (persistance d'une fièvre élevée, vomissements et prostration) il est vu aux urgences du CHAR et hospitalisé.

Le diagnostic de fièvre jaune a été confirmé en qRT-PCR sur un prélèvement du 08/08/2018 tandis que la sérologie Fièvre jaune mettait en évidence des IgM faiblement positives et des IgG négatives.

Evolution : Transféré en métropole le 9 août pour transplantation hépatique, il est décédé le 30 août. Il s'agit bien cette fois d'un cas de transmission selvatique autochtone

## **Publication:**

Sanna A, Andrieu A, Carvalho L, Mayence C, Tabard P, Hachouf M, Cazaux CM, Enfissi A, Rousset D, Kallel H. Yellow fever cases in French Guiana, evidence of an active circulation in the Guiana Shield, 2017 and 2018, *Eurosurveillance*, 2018 ; 23(36): pii=1800471.

### **4.3 CNR-LA-LR**

Jusqu'à la mi-mars, la majorité des cas de dengue DENV 2 ont été diagnostiqués par le CNR LR, suivie du typage. Ces prélèvements ont été aussi mis en culture et 5 d'entre elles ont été adressées au CNR coordonnateur pour séquençage et comparaison avec la souche DENV 2 des Seychelles génotype Cosmopolitan (Lustig et al, Euro Surveill, 2017). Travail en cours.

## **5. Activités de rétro-information, de formation et de conseil**

### **5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé**

#### **5.1.1 CNR Arbovirus-IRBA**

##### **➤ Prestations de conseils**

Le CNR est toujours à la disposition des professionnels de santé pour répondre à tous leurs questionnements. Cette mission du CNR a pris une part particulièrement importante avec l'émergence du virus Zika. En 2016 et 2017, 2h cumulées par jour ont été consacrées à cette mission en répondant aux patients, biologistes, médecins, sage-femmes et gynécologues. En 2018 l'activité s'est légèrement ralentie mais est restée élevée. Nous évaluons l'activité de prestations de conseils téléphonique à environ 1h30 par jour. Pour des questions plus médicales un infectiologue référend prend le relais : Dr Fabrice Simon, Chef du service d'infectiologie Tropicale de l'Hôpital d'Instruction des Armées de Laveran (Marseille).

Le CNR participe également au réunion de la cellule d'aide à la décision, aux saisines de la DGS aux recommandations rédigées par l'ECDC et l'OMS.

### **5.2 CNR-LA-IPG**

#### **➤ Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et des productions du CNR**

Les modalités de diffusion des données de surveillance auprès des partenaires sont détaillées au § 3.4.

##### **➤ Activités de conseils**

Les activités de conseil auprès des professionnels de santé (Cliniciens, Biologistes, médecins généralistes ou public..) sont exclusivement réalisées par le responsable ou le responsable adjoint du CNR, essentiellement par téléphone ou par courrier électronique. Bien que modérées à l'occasion d'une année inter-épidémique, ces activités restent au minimum hebdomadaires (le nombre de prestations de conseils recensées en 2018 s'élève à 71).

L'Institut Pasteur de la Guyane dispose d'un site web faisant l'objet de mises à jour régulières, sur lequel sont présentés le laboratoire de virologie et le CNR des arbovirus.

Pendant les heures ouvrables, les responsable et responsable adjoint peuvent être contactés par téléphone, mail ou fax. Une adresse électronique générique [cnrarbo@pasteur-cayenne.fr](mailto:cnrarbo@pasteur-cayenne.fr) (automatiquement redirigée sur les boîtes mail des responsables) est également disponible.

### ➤ **Accueil de stagiaires**

- Novembre 2017 à mai 2018 : accueil d'un interne en médecine de l'université Antilles Guyane en 8<sup>ème</sup> semestre de biologie médicale (Berthelot Léna).
- Novembre 2018 à mai 2019 : accueil d'un interne en pharmacie de l'université de Bordeaux en 7<sup>ème</sup> semestre de biologie médicale (Fourgeaud Jacques).

## **5.3 CNR-LA-LR**

Transmission de la feuille de renseignements aux laboratoires revue et corrigée, mise en ligne sur le site du CHU dans le Manuel de prélèvement (<http://lbm-chureunion.manuelprelevement.fr>).

Rétro-information en collaboration avec la CIRE OI : les résultats sont diffusés aux professionnels de santé (médecins, laboratoires) et à l'ensemble du réseau régional de santé publique par l'émission d'un Bulletin Point Epidémiologique bimensuel : nombre de cas de dengue, niveau de l'épidémie, recommandations.

Activités de conseil aux professionnels de santé : préciser l'organisation du CNR pour réceptionner les appels ou e-mails, le volume d'activités (si ces données sont disponibles), ...

## **5.4 Conseil et expertise aux autorités sanitaires**

### **5.4.1 CNR Arbovirus-IRBA**

La responsable du CNR Arbovirus-IRBA, I. Leparc-Goffart apporte son expertise auprès des différentes instances impliquées dans la santé publique (Santé Publique France, DGS, HAS, HCSP, ANSM, ABM, CNAM), notamment pour les recommandations émises en lien direct avec les Arboviroses d'intérêt national..

Cette expertise est également reconnue au niveau européen et international, avec une participation aux recommandations rédigées par l'ECDC et l'OMS. De plus, I. Leparc-Goffart fait partie du « management board » du réseau européen des laboratoires experts pour les maladies virales importées : EVD Labnet (anciennement ENIVD), subventionné par l'ECDC.

### **5.4.2 CNR-LA-IPG**

Activités de conseil et expertise auprès des **ARS** Martinique, Guadeloupe, Guyane, **Cire** Antilles et **Cire** Guyane

D. Rousset :

Membre du Comité d'Expert des Maladies à Caractère Epidémiologique (CEMCE) Guyane

Membre du réseau RELDA (Arbovirus Diagnosis laboratory Network of the Americas) de la PAHO (Pan American Health Organization) et activités de conseil auprès de la PAHO

### **5.4.3 CNR-LA-LR**

Membre de la cellule de veille, d'alerte et de gestion sanitaires (CVAGS) de l'ARS

Membre de la Cellule de Vigilance Dengue du CHU dans le cadre du plan ORSEC de lutte contre

la dengue

Participation à la réunion Préparation à l'épidémie de dengue avec l'ARS, la Direction du CHU (16 novembre 2018)

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

### **6.1 Activités de recherche pour l'année 2018**

#### **6.1.1 CNR Arbovirus-IRBA**

- **Développement de tests rapides à bas coût pour le diagnostic des arboviroses.**

Partenariat: BioMerieux, Innovations New Immuno-Concepts, Marcy-l'Etoile, France.

#### **Abstract**

The incidence of flavivirus infections has increased dramatically in recent decades in tropical and sub-tropical areas worldwide, affecting hundreds of millions of people each year. Dengue viruses are typically transmitted by mosquitoes and can cause a wide range of symptoms from flu-like fever to organ impairment and death. Although conventional diagnostic tests can provide early diagnosis of acute dengue infections, access to these tests is often limited in developing countries. Consequently, there is an urgent need to develop affordable, simple, rapid, and robust diagnostic tools that can be used at 'Point of Care' settings. Early diagnosis is crucial to improve patient management and reduce the risk of complications. In the present study, a novel laser-cut device made of glass-fiber paper was designed and tested for the detection of the dengue Non Structural 1 (NS1) viral protein and specific IgM in blood and plasma. The device, called PAD, was able to detect around 25 ng/mL of NS1 protein in various sample types in 8 minutes, following a few simple steps. The PAD was also able to detect specific IgM in human plasmas in less than 10 minutes. The PAD appears to have all the potential to assist health workers in early diagnosis of dengue fever or other tropical fevers caused by flaviviruses.

#### **Publications associées.**

Theillet G, Rubens A, Foucault F, Dalbon P, Rozand C, Leparco-Goffart I, Bedin F. [Laser-cut paper-based device for the detection of dengue non-structural NS1 protein and specific IgM in human samples](#). Arch Virol. 2018 Jul;163(7):1757-1767.

Theillet G, Grard G, Galla M, Maisse C, Enguehard M, Cresson M, Dalbon P, Leparco-Goffart IL, Bedin F. Detection of chikungunya virus-specific IgM on laser-cut paper-based device using pseudo-particles as capture antigen. J Med Virol. 2019 Jun;91(6):899-910.

Theillet G, Martinez J, Steinbrugger C, Lavillette D, Coutard B, Papageorgiou N, Dalbon P, Leparco-Goffart I, Bedin F. Comparative study of chikungunya Virus-Like Particles and Pseudotyped-Particles used for serological detection of specific immunoglobulin M. Virology. 2019 Mar;529:195-204. PMID: 30721816

- **Séroprévalence des arbovirus chez les chevaux de Nouvelle Calédonie et Polynésie Française**

Partenariat : UMR 1161 Virology, ANSES, INRA, ENVA, ANSES Animal HealthLaboratory, EURL on equinediseases, 94704 Maisons-Alfort, France

### **Résumé.**

Une enquête séro-épidémiologique a été réalisée sur 293 équins prélevés en Septembre 2015 et Avril 2016. Les sérums ont tout d'abord été analysés par un ELISA de compétition à l'UMR 1161. Les sérums positifs ont été confirmés par un immuno-essai en microsphère et par séroneutralisation. Le CNR a réalisé les séroneutralisations Dengue, West Nile et Zika pour 40 sérums équins. L'étude démontre l'infection des chevaux par les virus West-Nile et Encéphalite Japonaise mais surtout une séroprévalence bien plus élevée pour les virus Dengue 1 et Zika.

### **Publication.**

Beck C, Leparco-Goffart I, Desoutter D, Debergé E, Bichet H, Lowenski S, Dumarest M, Gonzalez G, Migné C, Vanhomwegen J, Zientara S, Durand B, Lecollinet S. Serological evidence of infection with dengue and Zika viruses in horses on French Pacific Islands. PLoS Negl Trop Dis. 2019 Feb 7;13(2):e0007162.

- **Diagnostic des fièvres d'origine inexpliquée (FOI) dans les forces françaises basées en Afrique Sub-Saharienne.**

### **Objectifs**

Due à une instabilité politique durable, la connaissance sur la circulation virale en Afrique Sub-Saharienne est faible. Dans le cadre d'interventions militaires, plus de 14000 militaires français par an sont exposés aux risques infectieux dans 8 pays sub-sahariens et 2-5% des forces développeront une fièvre d'origine inexpliquée (FOI). Une investigation étiologique virale des FOI offre l'opportunité de : (1) découvrir de nouveaux pathogènes, (2) une meilleure compréhension de la circulation virale dans ces territoires négligés et (3) une amélioration de la prise en charge médicale des syndromes fébriles. Cette étude a donc pour objectif de rechercher l'étiologie virale de FOI dans des échantillons sanguins collecté par le CNR, provenant de patients fébriles résidants ou ayant séjournés en Afrique Sub-Saharienne.

### **Etat d'avancement**

580 prélèvements précoces de sérum et plasma ont été sélectionnés pour cet étude. Par une approche non-spécifique exploitant les méthodes de diagnostic traditionnelles (isolation virale sur tapis cellulaire, détection d'ARN double-brin par ELISA, détection de génome par PCR dégénérées) et moderne (séquençage nouvelle génération), cette étude doit faire face à de multiples défis techniques comme la dégradation des échantillons congelés et la contamination chimique provenant des tubes de collections sanguins. Après avoir réussi à neutraliser les effets cytotoxiques des contaminants chimiques présents dans les plasmas, nous avons mis en place un protocole d'isolement systématique en plaque 6 puits, sur trois lignées cellulaires et a différentes concentration plasmatique. Les premiers résultats issus des cents premiers échantillons sont en cours d'analyse.

### **6.1.2 CNR-LA-IPG**

- **Projet ZIFAG : Etude descriptive prospective de la maladie à virus Zika au sein de la communauté des Forces Armées en Guyane**

Projet mené en collaboration avec le Service de Santé des Armées (Dr S Briolant et Dr F De Laval)

Suivi longitudinal d'une année de patients infectés par le virus Zika avec description clinique biologique et immunologique de l'infection aiguë et de son évolution : analyse de la cinétique virale et de l'infectiosité dans différents compartiments (sang veineux, sang capillaire et sperme) ainsi que de la cinétique de la réponse humorale.

Après la publication des travaux sur la cinétique virale et l'infectiosité dans le sang capillaire et le sperme en 2017, les travaux ont été poursuivis avec l'analyse des tableaux cliniques en 2018.

### **Publication :**

De Laval F, D'Aubigny H, Matheus S, Labrousse T, Ensargueix AL, Martinez Lorenzi E, Le Flem FX, André N, Belleoud D, Leparç-Goffart I, Rousset D, Simon F, Briolant S. Evolution of symptoms and quality of life during Zika virus infection: a 1-year prospective cohort study. *J Clin Virol*, 2018, 109, 57-62.

#### ➤ **FEDER EPI-Arbo : Séro-épidémiologie des arboviroses prioritaires en Guyane**

Présentation du projet : voir rapport annuel 2017.

##### ➤ **Les objectifs du projet visent à :**

- Déterminer la séroprévalence des principales arboviroses
- Déterminer la couverture vaccinale de la Fièvre Jaune
- Constituer une sérothèque utile à la réalisation de diverses études de prévalence dans le domaine des maladies infectieuses et tropicales en Guyane
- Produire les données nécessaires à la modélisation de la dynamique de transmission des épidémies survenues en Guyane.

##### ➤ **L'état d'avancement et le cas échéant les principaux résultats.**

Après tirage au sort de logements stratifiés par commune, 2717 personnes ont été enquêtées sur l'ensemble des communes de Guyane de juin à octobre 2017.

Les 2717 prélèvements collectés, ont été analysés par une technique Luminex MIA pour la détection en multiplex des anticorps dirigés contre les arbovirus suivants : Dengue, Zika, West Nile, Fièvre Jaune, Chikungunya, et Mayaro.

Les analyses Luminex ont ensuite été complétées et validées par des techniques d'ELISA classiques pour le chikungunya mais aussi et surtout par des techniques de séroneutralisation qui ont dans un premier temps ciblé les virus Zika (>600 microneutralisation (MNT) réalisées), Chikungunya (>100MNT), Mayaro (>100MNT).

Les résultats préliminaires montrent une séroprévalence globale de la dengue de 69.7%, du Zika de 23.1%, du Chikungunya de 19.3% et du Mayaro de 2.7% avec d'importantes variations géographiques cohérentes avec les aires de répartition des vecteurs respectifs.

#### ➤ **FEDER EFAG : Etiologie des Fièvres Aigues en Guyane**

Ce projet s'intègre dans une Etude descriptive prospective et recherche des Fièvres au sein de la communauté de défense des Forces Armées en Guyane (2FAG).

Présentation du projet : voir rapport annuel 2017.

- **Les objectifs :**

Améliorer les connaissances sur l'étiologie des fièvres aiguës d'origine infectieuse en Guyane (EFAG) en explorant les fièvres restant inexplicables après une démarche classique de diagnostic.

- **L'état d'avancement et le cas échéant les principaux résultats.**

Si le projet 2FAG a démarré mi 2017, le projet FEDER EFAG a attendu jusqu'au 2<sup>ème</sup> semestre 2018, l'envoi par la Collectivité territoriale de Guyane (Pôle Affaires Européennes) de la notification de décision d'attribution de l'aide européenne pour le démarrage du volet EFAG.

Au 31 décembre 2018, 144 patients avaient été inclus dans le projet 2FAG. Parmi eux, 52 ont été inclus dans la seconde phase du projet (EFAG) et une vingtaine passés en NGS.

Les inclusions et les analyses se poursuivront jusqu'en 2020.

### **6.1.3 CNR-LA-LR**

Yoasra BEDOUI est une doctorante sous la Direction du Pr Philippe GASQUE qui travaille sur les mécanismes physiopathologiques du rhumatisme post-chikungunya. Nous participons à la discussion des protocoles expérimentaux et encadrons l'étudiante lors de ses interventions dans le laboratoire L3.

#### **Abstract**

Chikungunya virus (CHIKV) is a mosquito-transmitted RNA alphavirus causing major outbreaks of infectious chronic inflammatory rheumatism (CIR). Recently, methotrexate (MTX), a disease modifying anti-rheumatic drug has been used successfully to treat patients suffering from rheumatoid-like arthritis post-CHIK but its immunomodulatory activity in the context of viral persistence has been a matter of concerns. We herein used a model of primary human synovial fibroblasts (HSF) and the synthetic molecule polyriboinosinic:polyribocytidylic acid (PIC) to mimic chronic infectious settings in the joints of CHIKV infected patients. The innate antiviral immune and inflammatory responses were investigated in response to MTX used at the therapeutic concentration of 1  $\mu$ M. We found that MTX did not affect cellular viability as indicated by the LDH release assay. By quantitative RT-PCR, we observed that HSF responded robustly to PIC by increasing ISG15 and IFN $\beta$  mRNA levels. Furthermore, PIC upregulated the mRNA expression of two of the major pattern recognition receptors, RIG-I and MDA5 involved in the innate immune detection of viral RNA. MTX did not impact the antiviral response of PIC on ISG15, IFN $\beta$ , RIG-I and MDA5 mRNA expressions. MTX alone or combined with PIC did not affect the expression of proinflammatory CCL2 and CXCL8 chemokines. PIC strongly upregulated the mRNA and protein expression of osteoclastogenic factors (IL-6, GM-CSF but not RANKL). Critically, MTX treatment alone or combined with PIC did not affect the expression of all three tested osteoclastogenic cytokines. We found that MTX alone did not increase the capacity of CHIKV to infect and replicate in HSF. In conclusion, our study argues for a beneficial effect of MTX to treat CIR post-CHIKV given that it does not critically impact the antiviral, the proinflammatory and the bone tissue remodeling responses of synovial cells.

#### **Publication**

Immunomodulatory drug methotrexate used to treat patients with chronic inflammatory

rheumatism post-chikungunya does not impair the synovial antiviral and bone repair responses. Bedoui Y, Giry C, Jaffar-Bandjee MC, Selambarom J, Guiraud P, Gasque P. PLoS Negl Trop Dis. 2018 Aug 3;12(8):e0006634. doi: 10.1371/journal.pntd.0006634. eCollection 2018 Aug. PMID: 30074983

## 6.2 Publications et communications

### 6.2.1 CNR Arbovirus-IRBA

#### Publications internationales :

1. Javelle E, Gautret P, Leparc-Goffart I. Letter to the editor: False-positive results with rapid diagnostic tests (RDT) for dengue. Euro Surveill. 2019 May;24(21).
2. Eldin C, Mailhe M, Zandotti C, Grard G, Galla M, Parola P, Brouqui P, Lagier JC. West Nile virus outbreak in the South of France: Implications for travel medicine. Travel Med Infect Dis. 2019 Mar - Apr;28:100-101.
3. Tong C, Javelle E, Grard G, Dia A, Lacrosse C, Fourié T, Gravier P, Watier-Grillot S, Lancelot R, Letourneur F, Comby F, Grau M, Cassou L, Meynard JB, Briolant S, Leparc-Goffart I, Pommier de Santi V. Tracking Rift Valley fever: From Mali to Europe and other countries, 2016. Euro Surveill. 2019 Feb;24(8).
4. Theillet G, Grard G, Galla M, Maisse C, Enguehard M, Cresson M, Dalbon P, Leparc-Goffart I, Bedin F. Detection of chikungunya virus-specific IgM on laser-cut paper-based device using pseudo-particles as capture antigen. J Med Virol. 2019 Jun;91(6):899-910.
5. Beck C, Leparc-Goffart I, Desoutter D, Debergé E, Bichet H, Lowenski S, Dumarest M, Gonzalez G, Migné C, Vanhomwegen J, Zientara S, Durand B, Lecollinet S. Serological evidence of infection with dengue and Zika viruses in horses on French Pacific Islands. PLoS Negl Trop Dis. 2019 Feb 7;13(2):e0007162.
6. Theillet G, Martinez J, Steinbrugger C, Lavillette D, Coutard B, Papageorgiou N, Dalbon P, Leparc-Goffart I, Bedin F. Comparative study of chikungunya Virus-Like Particles and Pseudotyped-Particles used for serological detection of specific immunoglobulin M. Virology. 2019 Mar;529:195-204. PMID: 30721816
7. de Laval F, d'Aubigny H, Mathéus S, Labrousse T, Ensargueix AL, Lorenzi EM, Le Flem FX, André N, Belleoud D, Leparc-Goffart I, Rousset D, Simon F, Briolant S. Evolution of symptoms and quality of life during Zika virus infection: A 1-year prospective cohort study. J Clin Virol. 2018 Dec;109:57-62.
8. Nurtop E, Villarroel PMS, Pastorino B, Ninove L, Drexler JF, Roca Y, Gake B, Dubot-Peres A, Grard G, Peyrefitte C, Priet S, de Lamballerie X, Gallian P. Combination of ELISA screening and seroneutralisation tests to expedite Zika virus seroprevalence studies. Virol J. 2018 Dec 27;15(1):192.
9. Fourié T, Grard G, Leparc-Goffart I, Briolant S, Fontaine A. Variability of Zika Virus Incubation Period in Humans. Open Forum Infect Dis. 2018 Oct 12;5(11):ofy261.
10. Leon F, Meyer A, Reynier R, Blanc E, Bruyère-Ostells L, Brès JC, Simonin Y, Salinas S, Gallian P, Leparc-Goffart I, Biron A, Dupont-Rouzeyrol M, Morvan F, Vasseur JJ, Foulongne V, Van de Perre P, Cantaloube JF, Fournier-Wirth C. [An Innovative Multiplexed And Flexible Molecular Approach For The Differential Detection Of Arboviruses.](#) J Mol Diagn. 2018 Sep 27. pii: S1525-1578(18)30157-0.
11. Oliosi E, Serero Corcos C, Barroso PF, Bleibtreu A, Grard G, De Filippis BAM, Caumes E. Yellow fever in two unvaccinated French tourists to Brazil, January and March, 2018. Euro Surveill. 2018 May;23(21).

12. Fontaine A, Lequime S, Moltini-Conclois I, Jiolle D, Leparco-Goffart I, Reiner RC Jr, Lambrechts L. [Epidemiological significance of dengue virus genetic variation in mosquito infection dynamics.](#) PLoS Pathog. 2018 Jul 13;14(7):e1007187.
13. Succo T, Noël H, Nikolay B, Maquart M, Cochet A, Leparco-Goffart I, Catelinois O, Salje H, Pelat C, de Crouy-Chanel P, de Valk H, Cauchemez S, Rousseau C. [Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?](#) Euro Surveill. 2018 Jun;23(23).
14. Vasquez V, Haddad E, Perignon A, Jaureguiberry S, Bricler S, Leparco-Goffart I, Caumes E. [Dengue, chikungunya, and Zika virus infections imported to Paris between 2009 and 2016: Characteristics and correlation with outbreaks in the French overseas territories of Guadeloupe and Martinique.](#) Int J Infect Dis. 2018 Jul;72:34-39.
15. Simonin Y, Sillam O, Carles MJ, Gutierrez S, Gil P, Constant O, Martin MF, Girard G, Van de Perre P, Salinas S, Leparco-Goffart I, Foulongne V. [Human Usutu Virus Infection with Atypical Neurologic Presentation, Montpellier, France, 2016.](#) Emerg Infect Dis. 2018 May;24(5):875-878.
16. Desclaux A, de Lamballerie X, Leparco-Goffart I, Vilain-Parcé A, Coatleven F, Fleury H, Malvy D. [Probable Sexually Transmitted Zika Virus Infection in a Pregnant Woman.](#) N Engl J Med. 2018 Apr 12;378(15):1458-1460.
17. Theillet G, Rubens A, Foucault F, Dalbon P, Rozand C, Leparco-Goffart I, Bedin F. [Laser-cut paper-based device for the detection of dengue non-structural NS1 protein and specific IgM in human samples.](#) Arch Virol. 2018 Jul;163(7):1757-1767.
18. Saba Villarroel PM, Nurtop E, Pastorino B, Roca Y, Drexler JF, Gallian P, Jaenisch T, Leparco-Goffart I, Priet S, Ninove L, de Lamballerie X. [Zika virus epidemiology in Bolivia: A seroprevalence study in volunteer blood donors.](#) PLoS Negl Trop Dis. 2018 Mar 7;12(3):e0006239.

#### Communications nationales :

Isabelle Leparco-Goffart, RICAI 2018. *Le risque arbovirose en France métropolitaine: dengue, chikungunya, zika, fièvre jaune ... et après ?*

#### **6.2.2 CNR-LA-IPG**

#### Publications internationales :

1. Bonifay T, Prince C, Neyra C, Demar M, Rousset D, Kallel H, Nacher M, Djossou F, Epelboin L. Atypical and severe manifestations of chikungunya virus infection in French Guiana: a hospital-based study. PLoS One, 2018, Dec 6;13(12):e0207406. doi: 10.1371/journal.pone.0207406.
2. Pomar L, Vouga M, Lambert V, Pomar C, Hcini N, Jolivet A, Benoist G, Rousset D, Matheus S, Malingier G, Panchaud A, Carles G, Baud D. Maternal-fetal transmission and adverse perinatal outcomes in a prospective cohort of Zika virus infected pregnant women in French Guiana. BMJ, 2018, Oct 31;363:k4431. doi: 10.1136/bmj.k4431.
3. De Laval F, D'Aubigny H, Matheus S, Labrousse T, Ensargueix AL, Martinez Lorenzi E, Le Flem FX, André N, Belleoud D, Leparco-Goffart I, Rousset D, Simon F, Briolant S. Evolution of symptoms and quality of life during Zika virus infection: a 1-year prospective cohort study. J Clin Virol, 2018, 109, 57-62.
4. Calvez E, O'Connor O, Pol M, Rousset D, Faye O, Richard V, Tarantola A, Dupont-Rouzeyrol M. Differential transmission of Zika viruses belonging to Asian and African lineage by Aedes aegypti from New Caledonia, Pacific region. Emerging Microbes & Infections, 2018, Sep 26;7(1):159. doi: 10.1038/s41426-018-0166-2.

5. Sanna A, Andrieu A, Carvalho L, Mayence C, Tabard P, Hachouf M, Cazaux CM, Enfissi A, Rousset D, Kallel H. Yellow fever cases in French Guiana, evidence of an active circulation in the Guiana Shield, 2017 and 2018, *Eurosurveillance*, 2018 ; 23(36): pii=1800471.
6. Fritzell C, Rousset D, Adde A, Kazanji M, Van Kerkhove MD, Flamand C. Current challenges and implications for dengue, chikungunya and Zika seroprevalence studies worldwide: a scoping review. *PLOS Neglected Tropical Disease*, 2018 Jul 16; 12(7):e0006533.
7. Hoen B, Schaub B, Funk AL, Ardillon V, Boullard M, Cabié A, Callier C, Carles G, Cassadou S, Césaire R, Douine M, Herrmann-Storck C, Kadhel P, Laouenan C, Madec Y, Monthieux A, Nacher M, Najioullah F, Rousset D, Ryan C, Schepers K, Stegmann-Plancharde S, Tressières B, Voluménie JL, Yassinguez S, Janky E, Fontanet A. Pregnancy Outcomes after Zika infection in the French Territories of America. *N Engl J Med*, 2018, March 15, 378;11, 985-994.
8. Basurko C, Everhard S, Matheus S, Restrepo M, Hildéral H, Lambert V, Boukhari R, Duvernois JP, Favre A, Valmy L, Nacher M, Carles G. A prospective matched study on symptomatic dengue in pregnancy. *PLoS One*. 2018 Oct 3;13(10):e0202005.
9. Basurko C, Matheus S, Hildéral H, Everhard S, Restrepo M, Cuadro-Alvarez E, Lambert V, Boukhari R, Duvernois JP, Favre A, Nacher M, Carles G. Estimating the Risk of Vertical Transmission of Dengue : a prospective Study. *Am J Trop Med Hyg*. 2018 Jun;98(6):1826-1832. doi: 10.4269/ajtmh.16-0794. Epub 2018 Apr 19.
10. Fontaine A, de Laval F, Belleoud D, Briolant S, Matheus S. Duration of Zika Viremia in Serum. *Clin Infect Dis*. 2018 Sep 14;67(7):1143-1144.

#### Publications nationales :

Hoen B, Cabié A, Funk AL, Herrmann C, Najioullah F, Schepers K, Douine M, Stegmann-Plancharde S, Rousset D, Fontanet A. Issue des grossesses et anomalies congénitales dans une cohorte de 546 femmes enceintes ayant présenté une infection symptomatique à virus ZIKA (ZIKV) confirmée par PCR au cours de l'épidémie de Zika dans les territoires français d'Amérique (TFA). *Médecine et maladies infectieuses*. 2018, 48 S16-S18.

#### Communications :

Rousset D : « Enjeux et challenges du diagnostic biologique de Zika ». Rencontres de Santé Publique des Antilles et de la Guyane. Cayenne 17-19 janvier 2018

Hoen B, Cabié A, Funk AL, Herrmann C, Najioullah F, Schepers K, Douine M, Stegmann-Plancharde S, Rousset D, Fontanet A. Issue des grossesses et anomalies congénitales dans une cohorte de 546 femmes enceintes ayant présenté une infection symptomatique à virus ZIKA (ZIKV) confirmée par PCR au cours de l'épidémie de Zika dans les territoires français d'Amérique (TFA). *JNI* juin 2018.

Enfissi A, Sanna A : « Guyane : enquêtes épidémiologiques et virologiques autour de 2 cas de fièvre jaune » Séminaire scientifique de l'IP Guyane – 06/12/2018

### **6.2.3 CNR-LA-LR**

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

### **7.1 CNR Arbovirus IRBA**

Le CNR Arbovirus-IRBA et le LNR West-Nile de Maison Alfort échangent de nombreuses informations sur la circulation des virus West-Nile et Usutu. Ces 2 laboratoires collaborent sur la détermination de la spécificité des anticorps anti-flavivirus chez les chevaux.

### **7.2 CNR-LA-IPG**

Rien à signaler

### **7.3 CNR-LA-LR**

Rien à signaler

## **8. Programme d'activité pour les années suivantes**

### **8.1 CNR Arbovirus-IRBA**

- Déménagement du CNR de l'HIA Laveran vers l'Institut Hospitalier Universitaire « Méditerranée Infection » à Marseille (Campus de La Timone) au 04 Février 2019.
- Evaluation des capacités de l'automate QiaSymphony sur les activités de diagnostic moléculaire des arbovirus d'intérêt pour le CNR
- Evaluation de kits commerciaux : TDR Dengue et Kits de sérologie West-Nile
- Poursuivre l'amélioration des tests de seroneutralisation via plusieurs approches : semi-automatisation, objectivation des méthodes de révélation, production et stabilisation des standards viraux et des contrôles, etc
- Extension de l'accréditation selon la norme NF 15189 au diagnostic sérologique et moléculaire de l'infection au virus Zika.

### **8.2 CNR-LA-IPG**

- Poursuite de l'analyse de la circulation et de l'étude phylogénétique du virus Mayaro en Guyane.
- Mise en place du suivi des géotypes de Dengue sur les souches circulantes.
- Poursuite des projets de recherche en cours :
  - FEDER Epi-Arbo : poursuite des analyses et notamment seroneutralisation Fièvre jaune, puis Dengue 1 à 4 sur une sélection de prélèvements .
  - FEDER EFAG : poursuite des inclusions et des analyses (isolement et NGS).
- Finalisation des dossiers de validation de méthode (VDM) pour les sérologies Dengue, Tonate et Mayaro et pour la qRT-PCR multiplex Dengue - Chikungunya.

### **8.3 CNR-LA-LR**

- se préparer à l'épidémie de dengue en 2019 au vu de la circulation ininterrompue de la dengue et de l'augmentation des cas en fin d'année 2018.
- Le laboratoire de microbiologie doit finaliser sa restructuration entre le site sud du GHSR et le site nord Félix Guyon dans le cadre du projet de convergence du CHU de la Réunion. Le nord doit récupérer l'activité de sérologie non urgente incluant les sérologies des arbovirus ainsi que l'activité de biologie moléculaire incluant es RTPCR des arbovirus du site sud. Le CNR de la Réunion centralisera les activités de diagnostic moléculaire et de sérologie des arbovirus du CHU ainsi que celles transmises par les établissements publics de l'est (Groupe Hospitalier Est Réunion GHER) et de l'ouest (Centre Hospitalier Ouest Réunion CHOR) et des LABM privés (typages de dengue).
- Collaborer avec la plateforme de NGS du laboratoire de génétique afin d'étudier la phylogénie des souches de dengue circulant à la Réunion et dans la zone Océan Indien via les cas importés et via le réseau SEGA.
- Mettre en place le protocole DEMARE « Etude observationnelle des infections humaines du virus de la DEngue sur deux îles de l'Océan Indien : MAdagascar et la REunion. » menée par le Dr Olga de Santis

## **Annexe 1 : Missions & organisation du CNR**

### **1.1 Missions du CNR et de ses laboratoires associés**

Rappel des missions et objectifs majeurs du CNR des Arbovirus et des laboratoires associés, en fonction des situations épidémiologiques existantes dans leur territoire :

Apporter une expertise microbiologique :

- ✓ En développant et/ou validant les techniques diagnostiques sérologiques et moléculaires des arboviroses
- ✓ En apportant son expertise aux laboratoires pour le diagnostic des arboviroses en France métropolitaine et dans les DOM
- ✓ En mettant les techniques à disposition des laboratoires désignés par les ARS ou intéressés
- ✓ En disposant d'une expertise pour l'identification et la caractérisation des souches d'arbovirus autochtones et importées en France métropolitaine et dans les DOM

Fournir un service de conseil :

- ✓ En collaboration avec les structures expertes en entomologie pour suivre la situation des vecteurs potentiels en métropole et dans les DOM
- ✓ En collaboration avec les structures en charge de la surveillance des arboviroses chez l'animal.

Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'Agence Nationale de Santé Publique :

- ✓ Plus particulièrement en lien avec les CIREs, et notamment celles des DOM
- ✓ En contribuant à la surveillance épidémiologique des arboviroses et à l'investigation d'éventuels cas groupés, selon les modalités définies par les plans concernant la lutte contre ces virus en vigueur en France métropolitaine et dans les DOM ;
- ✓ En contribuant aux réseaux de surveillance européens ou internationaux ;
- ✓ En contribuant à la veille internationale sur les arboviroses.

Contribuer à l'alerte :

- ✓ En signalant à l'Agence Nationale de Santé Publique tout événement inhabituel ou émergent : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), introduction de nouveaux arbovirus sur le territoire, etc.

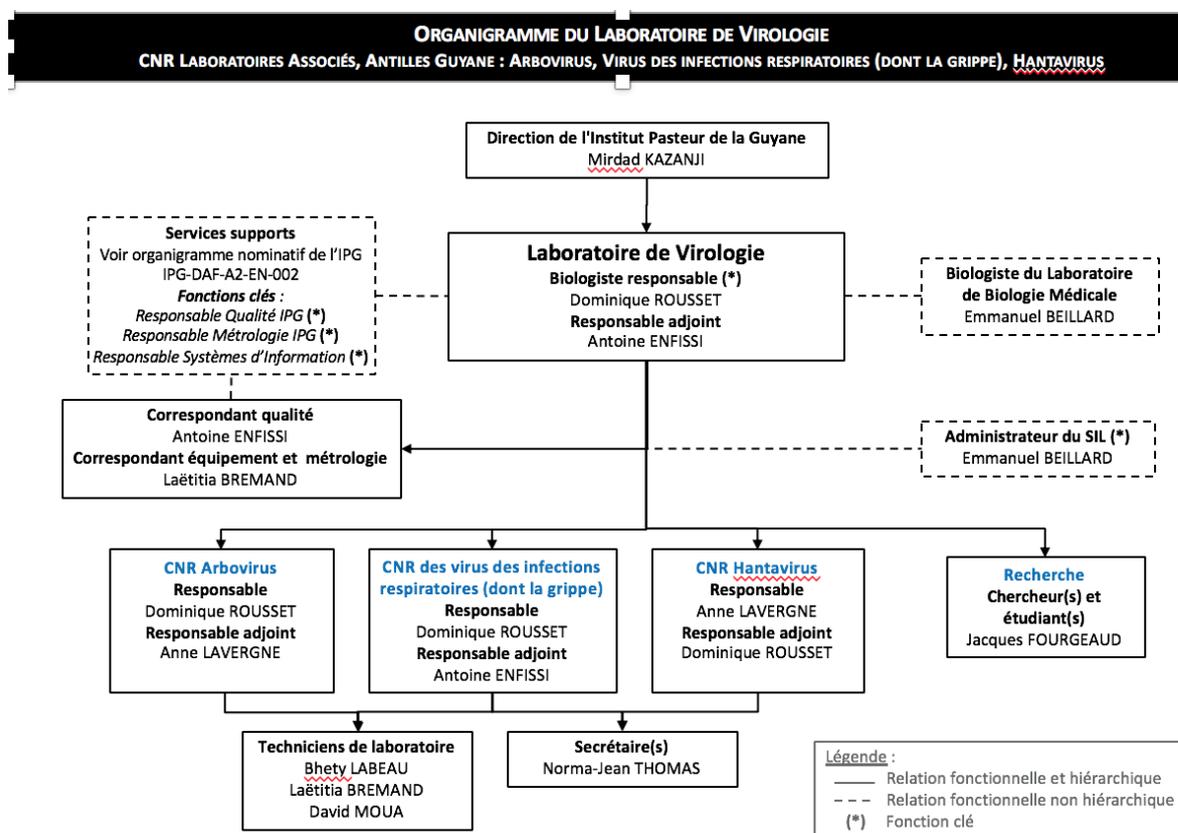
## 1.2 Organisation du CNR Arbovirus et de ses laboratoires associés

### 1.2.1 Laboratoire coordinateur, CNR Arbovirus-IRBA

Noms et prénoms	Fonction	Organisme payeur	ETP
Leparc-Goffart Isabelle, PhD, HDR	Responsable	IRBA, SSA	0,6
Grard Gilda, PhD	Adjointe	IRBA, SSA	0,7
Guerbois-Galla Mathilde, PhD	Adjointe	IRBA, SSA	0,7
Durand Guillaume, Méd, PhD	Adjoint	IRBA, SSA	0,7
Gravier Patrick	Technicien	IRBA, SSA	0,6
Tenebray Bernard	Technicien	IRBA, SSA	0,8
Geulen Manon	Technicien	IRBA, SSA	0,6
Bosio Laurent	Technicien	IRBA, SSA	0,8
Canivez Thomas	Technicien	CDD IRBA, SSA	0,8
Combe Pierre	Technicien	CDD IRBA, SSA	0,8
Sana Johanna (départ Mai 2017)	Secrétaire	IRBA, SSA	0,8

Tableau 1. Personnels affectés aux activités du CNR des Arbovirus, IRBA Marseille

### 1.2.2 CNR-LA-IPG



**Figure 2.** Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane au 31/12/2018 (en rouge : CNR arbovirus -LA-IPG)

Cinq membres du laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane sont impliqués dans les activités du laboratoire associé, CNR des Arbovirus pour la région Antilles-Guyane : un médecin biologiste, une ingénieure de recherche, deux techniciens et une secrétaire.

Nom	Prénom	Fonction	Qualification	Organisme payeur	ETP CNR Arbovirus
ROUSSET	Dominique	Responsable	MD, PhD	IP, Paris (CDI)	0,7
LAVERGNE	Anne	Responsable adjoint (depuis juillet 2018)	PhD	IP, Paris (CDI)	0,3
LABEAU	Bhétý	Technicien supérieur	DELAM	IP, Guyane (CDI)	1
MOUA	David	Technicien supérieur	BTS	IP, Guyane (CDI)	1
THOMAS	Norma-Jean	Secrétaire	-	IP, Guyane (CDI)	0,5

**Tableau 2 .** Personnels affectés aux activités du CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane au 31/12/2018.

Un Pharmacien Biologiste de l'IPG, Mr Emmanuel Beillard, apporte également son appui au CNR des arbovirus pour la validation biologique des analyses (0.1 ETP) en cas d'absence de la responsable.

### 1.2.3 CNR-LA-LR

## 1.3 Locaux et équipements

### 1.3.1 CNR Arbovirus-IRBA

#### Description des locaux :

L'unité des Arbovirus est installée au sein de l'Hôpital d'Instruction des Armées Laveran. Nos activités sont localisées dans 3 zones de l'hôpital :

- Sérologie et activités préanalytiques : laboratoire standard de 50 m<sup>2</sup>
- Biologie moléculaire : 3 pièces d'environ 10 m<sup>2</sup> chacune (pièce blanche, extraction et amplification) avec une marche en avant. Ces locaux sont partagés avec le laboratoire de biologie de la Fédération des Laboratoires de l'HIA Laveran.
- Activités de virologie classe 3 : une zone sécurisée comprend le laboratoire de culture cellulaire (NSB2, 15 m<sup>2</sup>) et le laboratoire de confinement de niveau 3(NSB3, 20 m<sup>2</sup>).
- Salle de stockage : les souches virales sont stockées dans un congélateur -80°C dédié et fermé à clef.L'ensemble du site, militaire, est soumis à une surveillance 24h/24, 7j/7.

#### Principaux Equipements :

- Plate-forme sérologie : un PSM, une centrifugeuse réfrigérée, deux bain-marie, un incubateur, un pH-mètre, trois laveurs de plaques, un lecteur de plaques, un réfrigérateur, un congélateur -20°C et un congélateur -80°C.
- Plate-forme biologie moléculaire : mini-hotte mix, trois centrifugeuses de paillasse, appareils de PCR en temps réel (deux QS5 et 3 Light Cyclers).
- Laboratoires confinés NSB3 et NSB2 : PSM (deux en NSB2 et un en NSB3), incubateurs dédiés (deux en NSB2 et deux en NSB3), une ultracentrifugeuse en NSB2, deux microscopes dont un microscope à fluorescence en NSB3.

Notre unité a rejoint l'Unité Mixte de Recherche 190 dirigée par Pr X. De Lamballerie et la laboratoire a déménagé le 04 Février 2019 dans les nouveaux locaux de l'Institut Hospitalier Universitaire « Méditerranée Infection » à Marseille, dévolu à la recherche en maladies infectieuses et tropicales.

### 1.3.2 CNR-LA-IPG

#### Description des locaux et équipements associés :

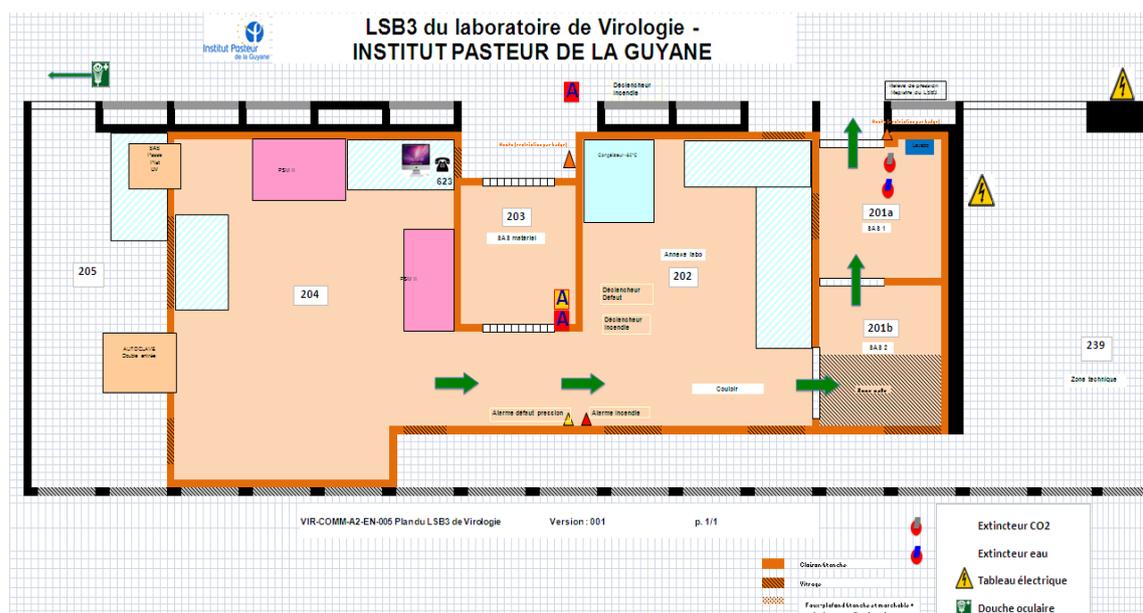
Le laboratoire de virologie de l'IP Guyane dispose actuellement d'une superficie globale de 310 m<sup>2</sup> répartie entre bureaux et laboratoires.



**Figure 3.** Plan général du laboratoire de virologie

- un laboratoire (pièce 248) où sont réalisés la réception et l'aliquotage des échantillons (35 m<sup>2</sup>). Ce local est équipé d'un PSM, d'une centrifugeuse réfrigérée, d'un automate Evolis, d'un bain-marie, d'un incubateur, d'agitateurs magnétiques, d'un pH-mètre, d'une balance de précision, d'un congélateur -20°C, d'un laveur de plaques, d'un lecteur de plaques, d'un réfrigérateur, d'une machine à glace et d'une hotte chimique.
- un laboratoire LSB2 (pièces 247 et 246) dédié à l'entretien des cultures cellulaires, et à l'isolement des virus de classe 2 (25 m<sup>2</sup>). Ce laboratoire est équipé de deux PSM, d'une centrifugeuse réfrigérée, de 3 incubateurs (28°C, 37°C et 37°C atmosphère 5% CO<sub>2</sub>) et d'un microscope inversé.

- un laboratoire dédié aux activités de biologie moléculaire de 20 m<sup>2</sup> comprenant une pièce pour la préparation des mix réactionnels (pièce 244b) et une pièce pour l'extraction des ARN (pièce 244). Cet espace est équipé d'un PSM pour la préparation des mix, d'une centrifugeuse réfrigérée haute vitesse, de trois micro-centrifugeuses, de deux congélateurs -20°C, de deux réfrigérateurs, d'une hotte UV utilisée pour le dépôt des ARN et de deux blocs chauffants.
- Un laboratoire LSB3 de 70 m<sup>2</sup> pour isolement et amplification virale des agents de classe 3, ainsi que pour les préparations d'antigènes.. Il est équipé de deux PSM type II, d'une centrifugeuse réfrigérée, de 2 incubateurs (28°C, et 37°C atmosphère 5% CO<sub>2</sub>), d'un microscope inversé, un congélateur -80°C, un ordinateur et un autoclave double-entrée.



Le laboratoire partage également avec l'ensemble des équipes de l'Institut, une plateforme technique de biologie moléculaire. Le laboratoire y dispose de trois thermocycleurs (GeneAmp 9700 Applied Biosystems), de trois thermocycleurs de PCR en temps réel (Applied Biosystems ABI7300, StepOnePlus® et Roche LC480) et d'une hotte PCR située dans une pièce spécifique, dédiée à la préparation des PCR nichées. Plusieurs générateurs et cuves d'électrophorèse horizontales ainsi qu'une station de capture d'image sont également mutualisés entre différents laboratoires de l'IPG.

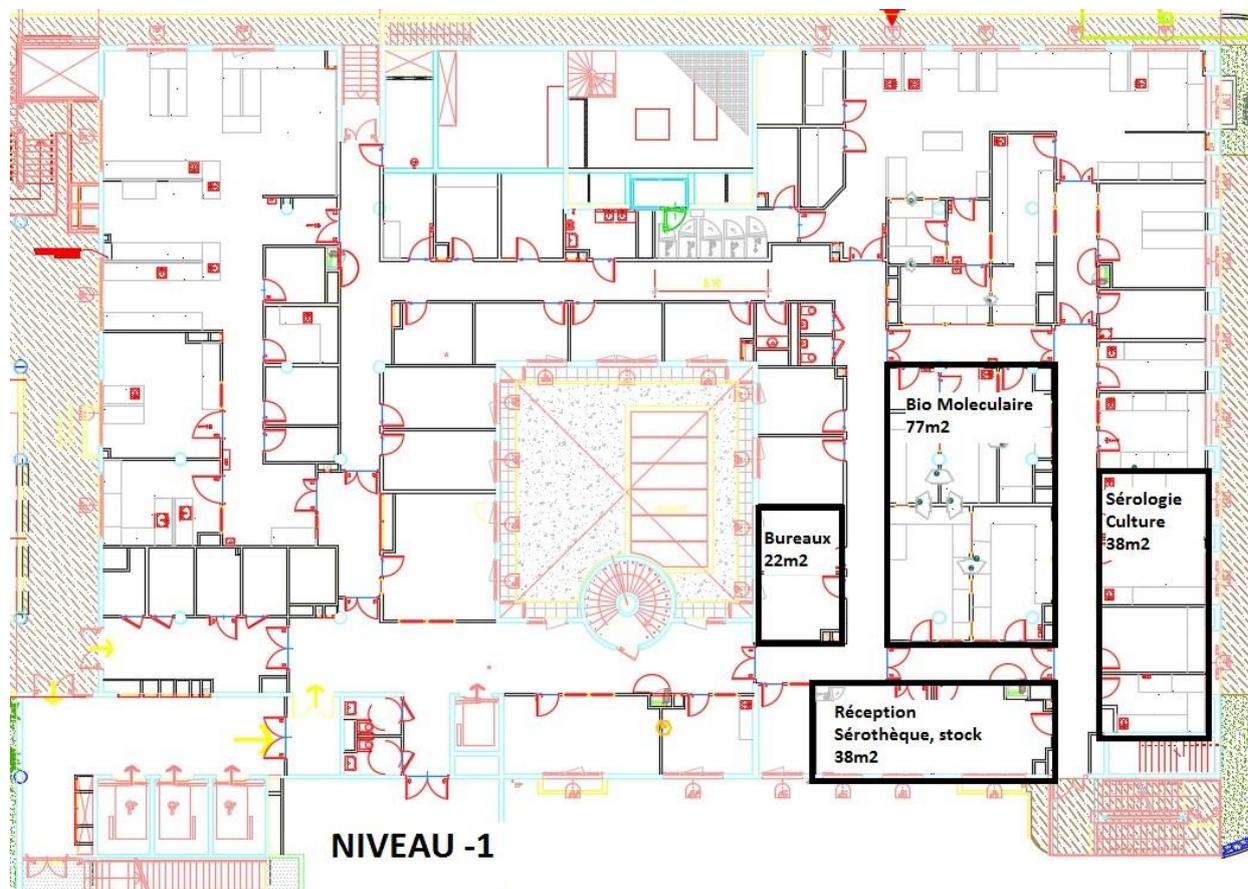
L'IP Guyane dispose également d'une animalerie souris et d'un laboratoire de type P2 équipé d'un PSM de type II. Cette animalerie présente toutes les caractéristiques nécessaires à l'accueil d'un élevage de souris (contrôle de la température, de l'hygrométrie, arrivée d'eau...). L'agrément nécessaire à l'exploitation de cette animalerie a été délivré par la Direction des Services Vétérinaires de la Guyane fin 2008.

Le laboratoire dispose par ailleurs de 3 congélateurs -20°C et de 5 congélateurs -80°C situés dans une salle climatisée.

### 1.3.3 CNR-LA-LR

Fin octobre-novembre 2018 l'ensemble du pôle Laboratoire du CHU Félix Guyon a déménagé dans les nouveaux locaux du Bâtiment des Soins Critiques sur le même site. Le CNR Associé a intégré la plate-forme de biologie moléculaire de 200 m<sup>2</sup> qui comprend 2 blocs

d'extraction/amplification de 42 m<sup>2</sup> chacun, une salle d'électrophorèse de 17 m<sup>2</sup>, une salle blanche, une salle de post-PCR 14 m<sup>2</sup>, une sérothèque 20 m<sup>2</sup>. La sérologie est réalisée dans une pièce de 12 m<sup>2</sup>. Le nouveau laboratoire P3 sera livré en octobre 2019 en raison de travaux supplémentaires. L'ancien P3 restera fonctionnel jusqu'à la livraison du nouveau.



Les zones qui sont concernées par l'activité du CNR LR sont les zones encadrées en noir.

Autres automates de biologie moléculaire dont le laboratoire dispose :

- extracteurs d'acides nucléiques : MagNa Compact, Easy Mag de Biomérieux
- 2 LC480 Roche Diagnostics

## 1.4 Collections de matériel biologique

### 1.4.1 CNR Arbovirus-IRBA

Famille	Genre	Virus	Souches	Antigènes	Immunsérums
Flaviviridae	Flavivirus	Dengue	OUI	OUI	OUI
		West Nile	OUI	OUI	OUI
		Usutu	OUI	OUI	OUI
		Encéphalite de St Louis	OUI	OUI	OUI
		Encéphalite Japonaise	OUI	OUI	OUI
		Fièvre Jaune	OUI	OUI	OUI
		Wesselsbron	OUI	OUI	OUI
		TBE (Langat)	OUI	OUI	OUI
		Ntaya	OUI	NON	NON
		Saboya	OUI	NON	NON
		Zika	OUI	OUI	OUI
		Rocio	OUI	NON	NON
Togaviridae	Alphavirus	Chikungunya	OUI	OUI	OUI
		O'Nyong Nyong	OUI	OUI	NON
		Mayaro	OUI	OUI	OUI
		Semliki Forest	OUI	OUI	NON
		Tonate	OUI	OUI	OUI
		Sindbis	OUI	OUI	OUI
		VEE	OUI	OUI	NON
		EEE	OUI	NON	NON
		WEE	OUI	NON	NON
		Ross River	OUI	OUI	OUI
Bunyaviridae	Orthobunyavirus	Bunyamwera	OUI	OUI	OUI
		Ilesha	OUI	NON	NON
		Bwamba	OUI	NON	NON
		Ingwavuma	OUI	NON	NON
		Lumbo	OUI	NON	NON
		Nyando	OUI	NON	NON
		Bahig	OUI	NON	NON
		Tahyna	OUI	OUI	OUI
	Nairovirus	Dugbe	OUI	OUI	OUI

		Erve	OUI	NON	NON
	Phlebovirus	Toscana	OUI	OUI	OUI
		Sandfly Naples	OUI	OUI	NON
		Sandfly Sicilian	OUI	OUI	OUI
		Fièvre de la Vallée du Rift	OUI	OUI	OUI

**Tableau 3** : Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence

- Conditions de stockage : congélateurs -80°C sécurisés, dans une pièce sécurisée
- Caractérisation des souches : Titrage, séquençage partiel ou complet, phylogénie.
- Mise à disposition :
  - Isolats de virus : sous MTA pour la traçabilité des souches (application de l'arrêté du 22 Septembre 2001 ; SANP012410A). Le CNR arbovirus IRBA a intégré courant 2013 la collection européenne EVA. Les souches isolées dans les activités de Centre National de Référence sont transférées vers la collection EVA pour mise à disposition de la communauté scientifique internationale. Ces souches sont ainsi complètement caractérisées (titre et séquence). Les exemples les plus représentatifs sont la mise à disposition *via* EVA de la séquence complète du virus Chikungunya responsable de l'épidémie à Saint-Martin en 2014, 5 jours seulement après la confirmation des premiers cas sur l'île, suivie rapidement par la disponibilité de l'isolat viral, ainsi que la mise à disposition de la souche Zika ayant circulé en Polynésie Française, avant son émergence au Brésil.
  - Sérums caractérisés : Le CNR Arbovirus-IRBA a décidé de distribuer gratuitement quel que soit la société demandeuse les ressources biologiques (dans la limite de disponibilité) nécessaires pour le développement de nouveaux tests diagnostiques en particulier pour la détection des IgM et des IgG Chikungunya et Zika. Nous avons aussi distribué de nombreuses ressources biologiques aux laboratoires des CHU pour la validation du diagnostic du virus Zika.

#### 1.4.2 CNR-LA-IPG

##### Souches, antigènes, immuns-sérums de référence

- Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence :

Le laboratoire de virologie de l'IP Guyane détient une collection de virus de référence lyophilisés pouvant permettre d'élargir le panel d'antigènes en vue d'enquêtes épidémiologiques ou à des fins diagnostiques, ainsi que les ascites correspondantes.

Il détient une collection d'échantillons biologiques d'origine humaine évaluée à 60000 sérums ou plasmas conservés à -20°C et 40000 sérums ou plasmas conservés à -80°C (infectés ou non par des arbovirus).

Ces collections sont déclarées chaque année depuis 2007 à la Direction Médicale de l'Institut Pasteur à Paris, qui assure ensuite sa déclaration auprès du Ministère de la Recherche. L'exploitation des prélèvements humains de ces bibliothèques pour les activités propres au CNR ou dans le cadre de demande de mise à disposition se fait sous conditions de l'obtention de la non-opposition des patients pour les prélèvements collectés depuis 2011 suite à la mise en place

d'une procédure ad hoc par le laboratoire de Virologie à l'IP Guyane. Pour les prélèvements antérieurs, une procédure de dérogation à l'obtention de la non-opposition est entreprise spécifiquement pour chaque étude auprès du CPP territorialement compétent.

- Conditions de stockage :

Les collections de prélèvements, d'isolats et de souches virales sont conservées à -80°C dans des congélateurs localisés dans des zones à accès sécurisé par badge ou clef. Un système de sondes de mesure de température relié à un dispositif d'enregistrement continu et à une centrale d'alarme est également mis en place.

### 1.4.3 CNR-LA-LR

Le CNR-LA-LR dispose de collections de souches répertoriées et conservées à -80°C dans le laboratoire P3 d'accès contrôlé (2 portes avec codes, traçabilité notée des entrées et sorties) :

- Chikungunya (souches) : 206 souches de l'épidémie de 2006, 1 souche 2009, 1 souche 2012
- Dengue (souches) : 18 souches de 2010 à 2014, 153 souches en 2017
- Zika (souches) : 2 (souches Afrique et Asie données par le CNR coordonateur)
- Souches de l'IRBA

Conditions de mise à disposition : établissement d'une MTA précisant le matériel (volume, caractéristiques) ainsi que le cadre et les objectifs d'utilisation.

Antigène West-Nile : 2 ml (IRBA)

Antigène RVF : 2.5 ml (IRBA)

Antigène Chikungunya : 5 ml (IRBA)

Antigène Dengue : 0.5 ml (IRBA)

Ascite Chikungunya : 0.1 ml (IRBA)

Ascite dengue : 1 ml (IRBA)

## 1.5 Démarche qualité du laboratoire

Le CNR Arbovirus-IRBA est suivi par une agence de consultants spécialisée dans l'accompagnement pour l'accréditation 15189 des LABM et sélectionnée en 2015 sur les conseils de notre réseau de laboratoires.

Suite à l'obtention de l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 pour l'analyse diagnostic des virus de la Dengue et du Chikungunya, une extension de cette accréditation au virus Zika pour le diagnostic par détection moléculaire et sérologie est à l'étude pour 2019. Le CNR Arbovirus-IRBA a également engagé les démarches nécessaires au bon déroulement selon la Norme NF EN ISO 15189 du déménagement de ses services en 2018, afin de maintenir l'accréditation.

Le laboratoire de virologie qui héberge le CNR- LA-IPG, est accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du COFRAC sous le numéro 8-3373 depuis Nov. 2014 pour la version 2007 et depuis Nov. 2015 pour la version 2012 de cette norme (sous-famille concernée : sérologie infectieuse / portée A). Le maintien de cette accréditation a été obtenu en août 2017 suite à la visite de suivi S3. Une demande d'extension du périmètre d'accréditation a

été déposée en septembre 2017 pour la sous famille : VIROH pour les techniques de détection moléculaire (portée B). Une seconde demande d'extension du périmètre d'accréditation pour la sous famille : ISEROBM pour les techniques de sérologie arbovirus « maison » / portée B) a été préparée pour un dépôt effectif en janvier 2018. Ces 2 demandes d'extension seront évaluées par le COFRAC lors de l'audit prévu en juillet 2018.

Le CNR-LA-LR fait partie intégrante du laboratoire de microbiologie du l'hôpital Félix Guyon du CHU de la Réunion. Le laboratoire du CHU a mis en place une politique Qualité depuis 2008. Il a obtenu l'Attestation de Qualification le 18 février 2013 par BioQualité, lui permettant de respecter la première échéance réglementaire de "preuve d'entrée dans la démarche d'accréditation" fixée au 1er novembre 2013. Une revue de direction biannuelle animée par l'ingénieur Qualité évalue le système Qualité par la mesures des écarts par processus (métrologie, SIL, pré-analytique avec la prescription connectée, achats, ressources humaines...). Plusieurs audits croisés ont été réalisés avec le site sud du CHU (GHSR).

Le laboratoire a été accrédité ISO 15189 en 2017 sur 62% du total des analyses (Attestation d'Accréditation 8-3832 Rev3). La validation de méthode en portée B a été réalisée pour la RT PCR multiplexe chikungunya/dengue/leptospirose dans la famille Microbiologie/virologie

#### Contrôles qualité externes

En tant que laboratoires de référence, les CNR Arbovirus-IRBA,LA-IPG et LA-LR participent au programme CQE-SEGA d'IQLS semestriel pour le diagnostic de la Dengue et du Chikungunya. Ils participent également aux CQE OMS quand ils sont proposés (WHO international PTP for the detection of Arboviruses (dengue, Chikungunya and Zikaviruses by PCR).

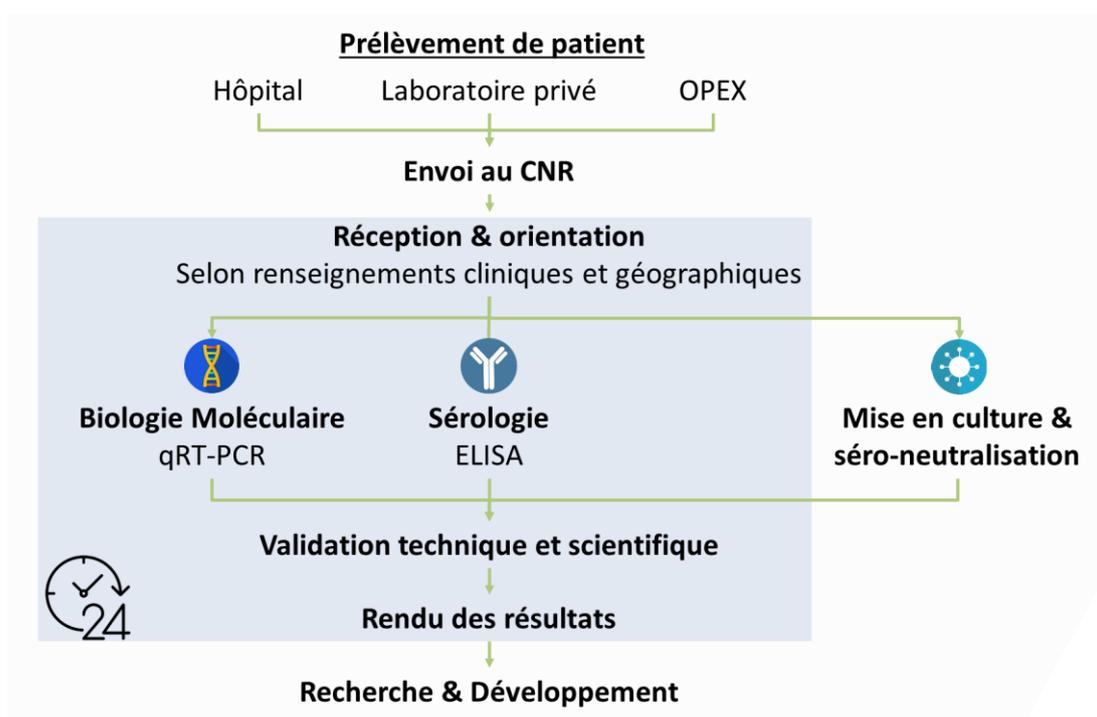
Par ailleurs, des contrôles qualités (détection du génome viral de la dengue, détection des anticorps contre les virus de la dengue et du chikungunya) sont également organisés régulièrement par le CNR Arbovirs-IRBAavec le CNR-LA-LR et pour son réseau de laboratoires en métropole.Le CNR-LA-IPG organise des CIL (sérologie Chikungunya , antigène NS1 ..) pour les laboratoires de Guyane intéressés.

## Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

### 2.1 Liste des techniques de référence

#### 2.1.1 CNR Arbovirus-IRBA

Pour rappel, le parcours suivi par un échantillon reçu au CNR Arbovirus-IRBA est illustré dans la figure 4 ci-dessous.



**Figure 1.** Diagramme illustrant le traitement d'un échantillon patient par le CNR des Arbovirus. En surlignage bleu figure la partie diagnostic à laquelle est soumis l'échantillon.

Liste des techniques disponibles pour l'analyse des échantillons :

- Sérologie : ELISA indirect IgG, capture des IgM (MAC-ELISA), immunofluorescence, séroneutralisation (test de neutralisation par réduction de titre), immunoblot, détection de la protéine NS1 de la Dengue par ELISA
- Détection moléculaire : Détection d'ARN viral par qRT-PCR en temps réel, génotypage (séquençage de produits d'amplification génique, séquençage génome complet, analyse comparative et phylogénétique), en collaboration avec l'UMR du Pr Xavier de Lamballerie.
- Isolements viraux sur lignées cellulaires en culture (invertébrés et vertébrés), titrages de virus.
- Production et validation de réactifs sérologiques : préparations antigéniques (cellules infectées fixées, surnageants viraux précipités et inactivés), protéines virales recombinantes à but diagnostic ; anticorps mono- et polyclonaux.

Tous les tests de sérologie et de biologie moléculaire sont applicables sur sérum, plasma, LCR et spot de sang sur papier buvard.

Genre	Virus	Sérologie	Culture	Identification			Biol. Moléculaire	
		Elisa IgM / IgG		IF	Neutrali- sation	Western blot (IRBA)	RT-PCR (temps réel)	RT-PCR (classique)
Alphavirus								•
	Chikungunya	•#	•	•	•		•#	
	O' Nyong Nyong	•	•	•	•			
	Ross River	•	•	•	•			
	Sindbis	•	•	•	•			
	Semliki Forest	•	•	•	•			
	Mayaro	•	•	•	•		•	
	Tonate	•	•	•	•			
	VEEV	•	•	•	•			•
	EEEV	•	•	•	•			
	WEEV	•	•	•	•			
Flavivirus								•
	Fièvre jaune	•	•	•	•		•	
	Dengue \$	•#	•	•	•		•#	
	West Nile	•	•	•	•	•	•	
	Usutu	•	•	•	•		•	
	Wesselsbron	•	•	•	•			
	TickbornEnc	•	•	•	•		•	
	JapaneseEnc	•	•	•	•		•	
	Saint Louis Enc	•	•	•	•		•	
Zika	•	•	•	•		•		
Bunyavirus								•
	Bunyamwera	•	•	•	•			
	Tahyna	•	•	•	•			
Phlebovirus								•
	Rift Valleyfever	•	•	•	•		•	
	Toscana	•	•	•	•		•	
	SandflySicilian	•	•	•	•		•	
	Sandfly Naples	•	•	•	•		•	

**Tableau 1.** Techniques d'analyse disponibles par virus.

# : techniques accréditées NF EN ISO 15189 au 1<sup>er</sup> Janvier 2018

\$ : détection antigénique (antigène NS1) possible à l'aide de tests commerciaux de type immunoenzymatique et immunochromatographique dans le sérum de patients infectés pendant la phase aiguë de la maladie.

## 2.1.2 CNR-LA-IPG

- Sérologie :
  - IgM (MAC-ELISA), IgG (ELISA ou GAC-ELISA) : accréditation de la sérologie maison pour la détection des IgM et IgG Chikungunya en portée flexible B. Pour les autres sérologies les dossiers de validation de méthode sont en cours de finalisation..
  - Immunofluorescence, séroneutralisation
- Détection d'ARN viral par RT-PCR en temps réel : accréditation des qRT-PCR maison (détection et typage grippe) en portée flexible B. Pour les autres qRT-PCR maison du laboratoire, les dossiers de validation de méthode sont en cours, en commençant par les qRT-PCR Dengue et Chikungunya.
- Détection de la protéine NS1 de la dengue par ELISA, (*technique accréditée*)
- Génotypage (séquençage classique ou NGS),
- Isolements viraux sur lignées cellulaires (moustiques et mammifères), titrages de virus,
- Production et validation de réactifs sérologiques: préparations d'antigènes (en culture cellulaire ou sur cerveaux de souris nouveaux-nés) et productions d'ascites de souris hyper-immunes,

Genre	Virus	Sérologie	Culture	Typage		Biologie moléculaire	
		ELISA (IgM /IgG /IgA*)		IFI# <sup>a</sup>	MNT#	RT-PCR temps réel	RT-PCR
<b>Alphavirus</b>	Chikungunya	X*	X	X	X	X	
	Tonate	X	X	X		X	X
	Mayaro	X	X	X	X	X	X
	Encéphalite Equine Vénézuélienne		X	X			
<b>Flavivirus</b>	Dengue	X*	X	X	X	X	X
	Dengue typage		X	X		X	X
	Fièvre jaune	X	X	X	X	X	X
	Encéphalite Saint Louis	X	X	X		X	X
	Encéphalite japonaise					X	
	Rocio					X	
	West Nile	X	X	X		X	X

	Zika	X*	X	X	X	X	
<b>Bunyavirus</b>							
	Oropouche		X	X		X	
	Catu		X	X			
	Guama		X	X			
	Murutucu		X	X			
	Caraparu		X	X			
	Oriboca		X	X			

**Tableau 2.**Liste de techniques validées et mises en œuvre par le laboratoire associé IPG #IFI= Immunofluorescence indirecte, #MNT= Microneutralisation

### 2.1.3 CNR-LA-LR

- Chikungunya : RT-PCR (IRBA), sérologie
- Dengue : RT-PCR, typage (IRBA), sérologie
- Typage de dengue
- Multiplexe chick/dengue/leptospirose (CNR Réunion)
- Zika : RT-PCR (Faye et al ,Virology Journal 2013) et kit Altona
- Fièvre du Rift : RT-PCR (IRBA)
- Fièvre du West-Nile : RT-PCR (IRBA), sérologie
- RT-PCR pan-Flavivirus (Patel et al, Virology Journal 2013), pan-Alphavirus (CNR-Réunion)

### 2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Dans le cadre de leurs activités d'expertise, le CNR Arbovirus-IRBA et ses CNR associés ont réalisés l'évaluation de différents kits commerciaux pour le diagnostic des arboviroses au cours de leurs années de mandat. Voici les kits que le CNR Arbovirus-IRBA recommande pour le diagnostic des infections par les virus de la Dengue, du Chikungunya et le virus Zika :

- Détection moléculaire du virus Zika : Altona RealStarZika virus RT-PCR kit 1.0
- Sérologie : kits EUROIMMUN
  - ELISA dengue virus IgG e tELISA dengue virus IgM
  - ELISA anti-chikungunya virus IgG et ELISA anti-chikungunya virus IgM