

Rapport annuel d'activité

2021

Centre de 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
2019
-2020

Résumé analytique

Les années 2019 et 2020 ont été marquées par les épidémies de dengue dans les territoires français ultramarins, impliquant les sérotypes 1, 2 et 3. Dans les TFA (territoires français des Amériques), après une succession d'épidémies et émergences quasi ininterrompues de 2012 à 2016, une situation inter-épidémique a été observée en 2017 et 2018. L'année 2019 a été marquée par la multiplication de cas importés puis autochtones de dengue aboutissant en 2020 à une situation épidémique sur l'ensemble des TFA. Une cocirculation de différents sérotypes a été observée sur tous les territoires (seul le sérotype 4 n'a pas été détecté) avec un sérotype largement majoritaire et distinct dans chaque département : Dengue 3 (93%) en Martinique, Dengue 2 (65%) en Guadeloupe et Dengue 1 (82%) en Guyane. Sur l'île de La Réunion, le virus DENV-2 apparu en 2017 s'est maintenu à bas bruit au cours de l'hiver austral et a continué à circuler en 2018. En 2019, le sérotype DENV-2 était majoritaire sur l'île mais accompagné d'un bruit de fond lié au sérotype DENV-1. Au cours de l'année 2020, le sérotype DENV-2 de La Réunion a été progressivement remplacé par le sérotype DENV-1 devenu majoritaire. Dans le même temps, les 1ers cas d'infection à DENV-3 ont été détectés. L'arrivée séquentielle de ces différents sérotypes laisse ainsi craindre un risque accru d'apparition de formes sévères de dengue.

Dans les TFA, parallèlement à l'épidémie de Dengue, différentes arboviroses ont été mises en évidence en 2019 et surtout en 2020 qu'il s'agisse du diagnostic d'infections par des virus endémiques en Guyane (virus Tonate, Mayaro ou encore Fièvre jaune) ou de première détection en Guyane du virus Oropouche.

En France métropolitaine, le 1^{er} foyer autochtone à transmission vectorielle du virus Zika a été enregistré en 2019. Trois foyers de transmission autochtone du virus de la dengue se sont également déclarés. En 2020, malgré les restrictions de voyages imposées par la pandémie de SARS-COV2, 6 foyers de transmission autochtone du virus de la dengue ont été enregistrés. Par ailleurs, le plus gros foyer d'infection à TBE par voie alimentaire a été enregistré en 2020, avec 41 cas confirmés dans l'Ain. Cet épisode a donné lieu à la publication par le HSCP et l'ABM de recommandations de qualification des dons pour la prévention du risque de transmission par voie transfusionnelle, greffe d'organe, et don de cellules souches hématopoïétiques.

Abstract

The years 2019 and 2020 were marked by dengue epidemics in the French overseas territories, implicating serotypes 1, 2 and 3. In the FTA (French territories of the Americas), after a succession of epidemics and almost uninterrupted emergence from 2012 to 2016, an inter-epidemic period was observed in 2017 and 2018. The year 2019 was marked by the multiplication of imported and indigenous cases of Dengue, resulting in 2020 in an epidemic situation in all FTAs. Co-circulation of different serotypes was observed in all areas (only serotype 4 was not detected) with distinct serotype in each department: Dengue 3 (93%) in Martinique, Dengue 2 (65%) in Guadeloupe and Dengue 1 (82%) in Guyana. On Reunion Island, the transmission of DENV-2 virus which appeared in 2017 was still ongoing during the southern winter and the year 2018. In 2019, the DENV-2 serotype was predominant on the island, but the 1st occurrences of the DENV-1 serotype were recorded. During 2020, the DENV-2 serotype from La Réunion was gradually replaced by the DENV-1 serotype, which has become the majority. At the same time, the 1st cases of DENV-3 infection were detected. The sequential arrival of these different serotypes thus raises the risk of developing severe forms of dengue infection.

In FTAs, in addition to the dengue epidemic, various arboviruses were highlighted in 2019 and especially in 2020, whether it concerns the diagnosis of infections by endemic viruses in Guyana (Tonate virus, Mayaro or Fièvre yellow) or the first detection in Guyana of the Oropouche virus. In mainland France, the first indigenous outbreak with vector transmission of Zika virus was recorded in 2019. Three outbreaks of indigenous transmission of dengue virus were also declared. In 2020, despite the travel restrictions imposed by the SARS-COV2 pandemic, 6 outbreaks of indigenous transmission of dengue virus were recorded. In addition, the largest outbreak of foodborne TBE infection was recorded in 2020, with 41 confirmed human cases in the department of Ain. This outbreak led to the publication by the HSCP and the ABM of recommendations for donors qualification to prevent the risk of transmission through transfusion, organ transplantation, and hematopoietic stem cell donation.

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 équipes

1.1 CNR Arbo-IRBA (laboratoire coordonateur)

➤ Organigramme

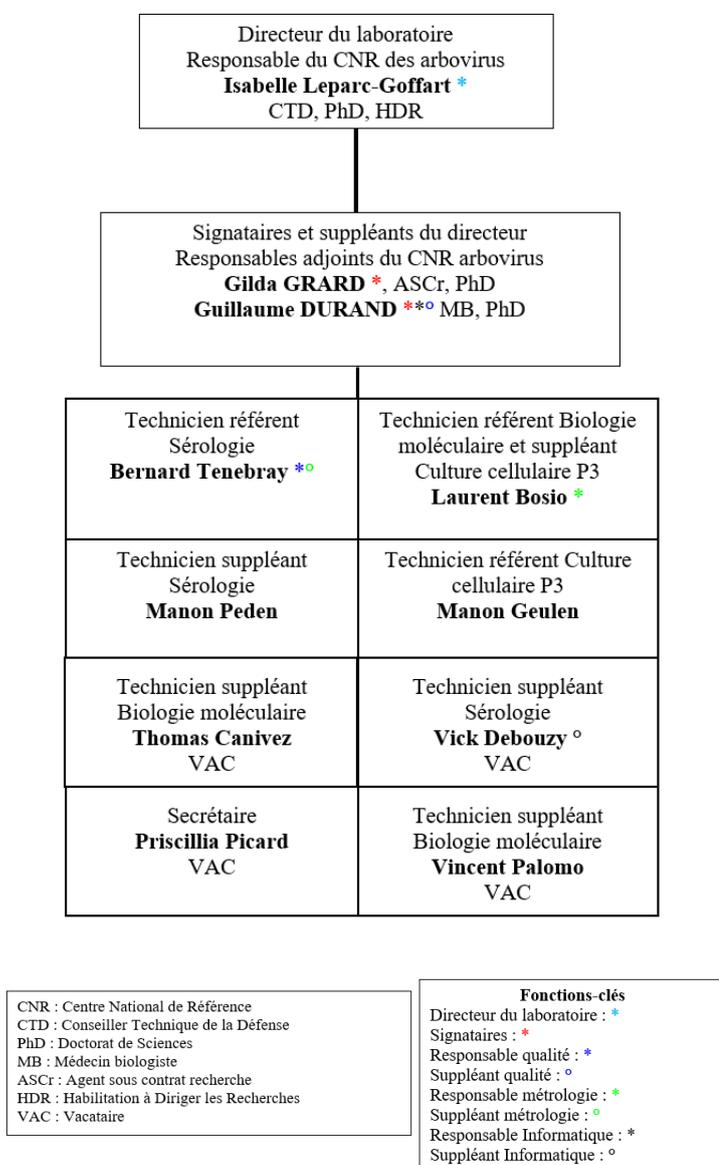


Figure 1 : Organigramme du CNR Arbovirus-IRBA en 2019 et 2020

La figure 1 rappelle les personnels et l'organisation du laboratoire coordinateur CNR Arbovirus - IRBA Marseille, sous forme d'organigramme. Le CNR a quatre personnels intérimaires : une secrétaire et trois techniciens de laboratoire.

➤ Locaux et équipements de laboratoire

Le CNR Arbovirus – IRBA a déménagé le 04 février 2019 vers les locaux de l'IHU Méditerranée-Infection situé dans le 5ème arrondissement de Marseille. Le laboratoire partage les locaux de l'UMR des Virus Emergents dirigée par le Professeur Xavier de Lamballerie, permettant un partage des plateformes, des automates et une collaboration scientifique plus efficiente. Le

déménagement depuis l'HIA Laveran s'est effectué sans encombre et aucune fiche de réclamation n'a été enregistrée.

Le site internet du CNR (CNR-Arbovirus.fr) a été mis en place en 2019. Il permet entre autre un accès direct au manuel de prélèvement, fiche de renseignement et étiquette d'expédition des prélèvements. Il a été visité par 3991 personnes (pour 13045 visites) en 2019 et 13045 personnes (pour 27365 visites) en 2020.

Le descriptif des capacités techniques du CNR est détaillé en annexe 2.

➤ Démarche Qualité et Aspects Règlementaires

Le laboratoire est accrédité par le COFRAC selon la norme NF EN ISO 15189 depuis le 1^{er} janvier 2018. 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 dernière visite de ré-évaluation a eu lieu en décembre 2020. Cet audit (rapport d'évaluation n°SH-20-0463-1) n'a soulevé aucun écart majeur, et un écart mineur qui concernait la gestion des non conformités. Le laboratoire a également initié une démarche d'accréditation selon la norme ISO 9001.

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

➤ Organigramme

Aucune modification dans l'organisation du CNR-LA-IPG n'est intervenue en 2019-2020.

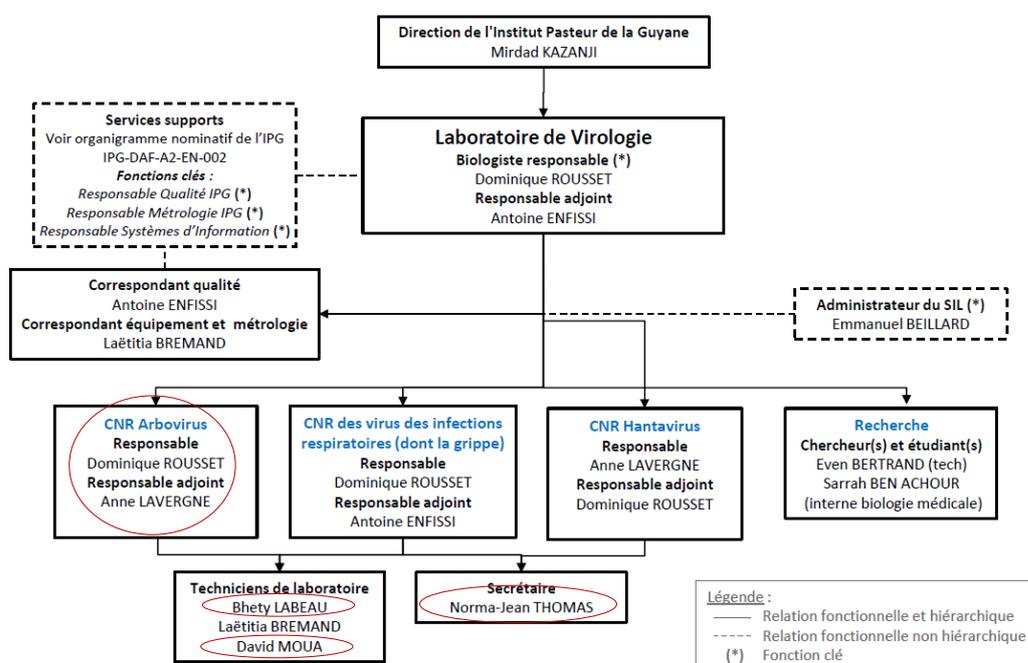


Figure 2 : Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane période 2019-2020 (en rouge : CNR arbovirus-LA-IPG)

➤ **Locaux et équipements de laboratoire :**

Une rénovation des locaux de culture cellulaire du laboratoire de virologie a été réalisée en 2020 sans modification de l'organisation globale du laboratoire (voir descriptif en annexe).

➤ **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-familles concernées : microbiologie générale MICROBIOBM/ portée B (sérologie Chikungunya) et virologie spécialisée VIROH/ portée B (PCR Dengue). A l'occasion de la visite de surveillance en septembre 2019, le laboratoire a obtenu le maintien de son accréditation.

1.3 CNR-LA-LR (CNR laboratoire associé CHU de La Réunion)

➤ **Organigramme**

Toute l'activité Arbovirus du CHU nord et sud de La Réunion a été centralisée sur le CNR Associé sur le site nord de Félix Guyon. En septembre 2019, le Dr Roquebert Bénédicte a quitté le CHU. Elle a été remplacée par le Dr Traversier Nicolas en tant que Directeur adjoint du CNR Associé. En février 2021, Claude Giry ingénieur a quitté l'établissement et a été remplacé par Etienne Frumence.

ORGANIGRAMME DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE HEBERGEANT LE CNR ASSOCIE DES ARBOVIRUS AU CHU DE LA REUNION

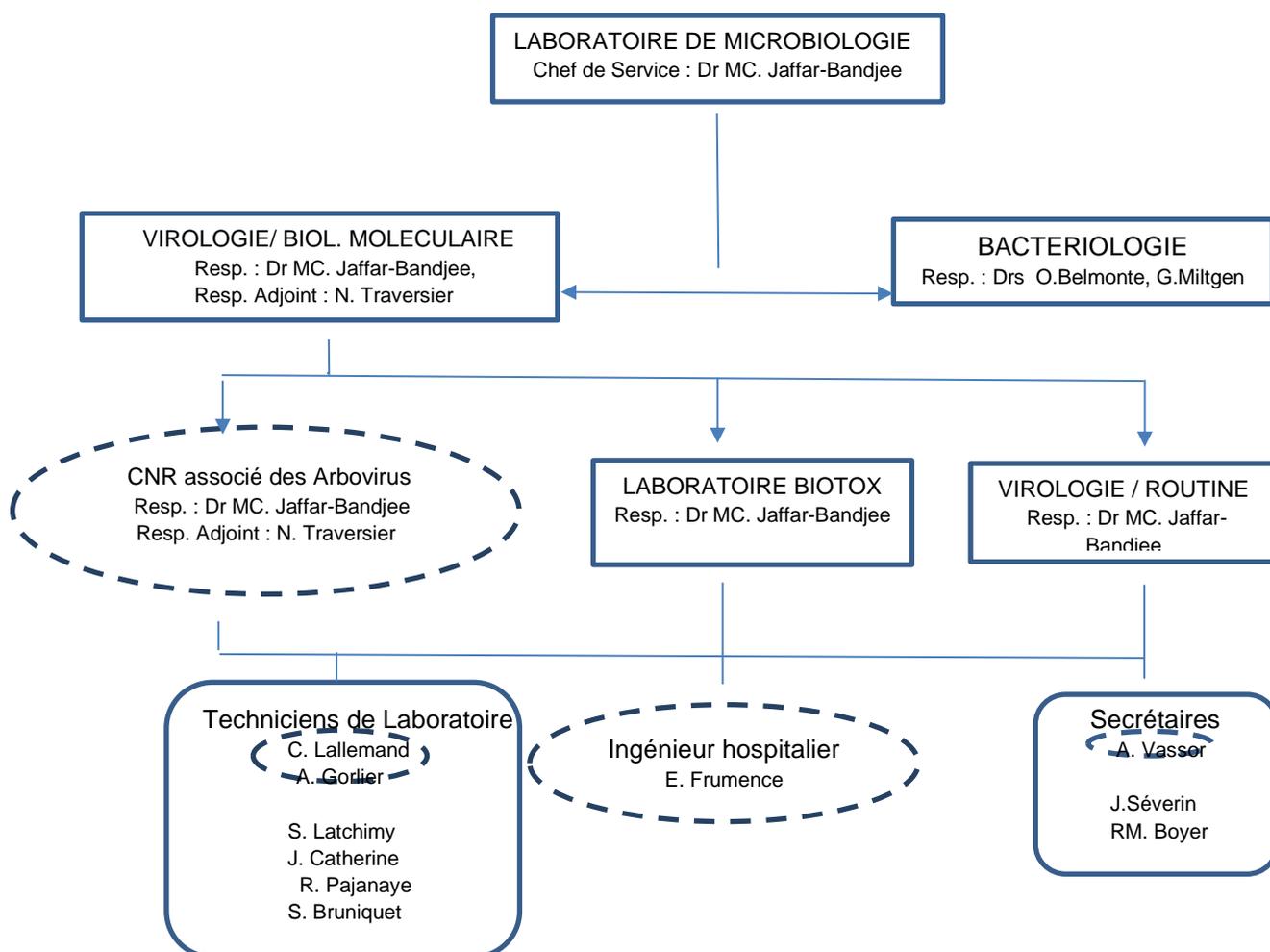


Figure 3 : Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé Réunion période 2019-2020 (en pointillé : CNR arbovirus-LA-LR)

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

Nicolas Traversier, Pharmacien, PH, Responsable adjoint : 0.2 ETP

Etienne Frumence, 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 m² qui comprend 2 blocs d'extraction/amplification de 42 m² chacun, une salle d'électrophorèse de 17 m², une salle blanche, une salle de post-PCR 14 m², une sérothèque 20 m². La sérologie est réalisée dans une pièce de 12 m². Le nouveau laboratoire P3 (200 m²) a été livré en juillet 2020 en raison de travaux supplémentaires.

Nous venons d'acquérir un séquenceur NGS GridION d'Oxford Nanopore qui a été installé sur la plateforme de séquençage dans le service de génétique, sachant qu'il possède déjà un séquenceur ILLUMINA miniSeq.

➤ **Démarche Qualité et Aspects Règlementaires**

Le laboratoire a été accrédité par le COFRAC selon la norme ISO 15189 pour 79% du total des analyses du pôle Biologie (8-3832). L'analyse PCR multiplex chikungunya/dengue/leptospirose dans la famille Microbiologie/Virologie a été accréditée en portée B en 2019.

➤ **Contrôles de Qualité Externes CQE**

Programme d'assurance qualité organisé par The Royal College of Pathologists of Australasia (RCPAQAP) & WHO en 2019 :

13 EEQ sur les Arbovirus (dengue, chikungunya, Zika, TBE, JE : 100% d'identification sauf pour le prélèvement positif à l'encéphalite japonaise (JE) que nous n'avons retrouvé qu'avec notre RTPCR pan Flavivirus et pas à notre RTPCR JE.

5 EEQ sur différentes souches de Zika et du virus de la fièvre jaune : 100% d'identification

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, et de mise à disposition de ces collections sont décrites dans l'annexe 2.

2.1 Évolutions des techniques

2.1.1 CNR Arbovirus-IRBA

Pas d'évolution technique à signaler en 2019-2020 dans le domaine des arbovirus. Dans le cadre du projet national Résilience, nous avons mis en place des outils de diagnostic direct (RT-PCR) et indirect (sérologie, séroneutralisation) du SARS-CoV-2. En 2020, 2233 échantillons biologiques ont été analysés (823 écouvillons nasaux, 1410 prélèvements sanguins).

Le flux de techniques utilisées en routine pour le diagnostic des arbovirus a été modifié avec l'ajout de la mise en culture systématique des prélèvements précoces. Ainsi, sur 117 cultures réalisées, 79 ont été faites sur des prélèvements pour lesquels les PCR de routine étaient négatives et 21 sur des prélèvements pour lesquels une PCR positive a été retrouvée. L'investigation approfondie de ces résultats a été reportée devant le contexte de pandémie COVID-19 (pénurie de consommables de laboratoire).

2.1.2 CNR-LA-IPG

Technique développée :

Mise en place en 2020 d'une technique de séroneutralisation pour la mise en évidence des anticorps neutralisants le virus Oropouche, par microneutralisation en plaque 96 puits

2.1.3 CNR-LA-LR

Rien à signaler en 2019-20

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

2.2.1 CNR Arbovirus-IRBA

Evaluation en mai 2019, en collaboration avec le CNR associé à Saint Denis du TROD Biosynex pour la détection d'une infection récente par le virus de la dengue, en vue d'un déploiement possible sur La Réunion (cf paragraphe 2.2.3.1)

2.2.2 CNR-LA-IPG

Rien à signaler en 2019-2020

2.2.3 CNR-LA-LR

Le CNR de la Réunion a testé des tests de diagnostics rapides de la dengue.

- Octobre 2019 : dans le cadre d'un déploiement de tests rapides aux médecins libéraux et aux services d'urgence des établissements de soins par l'ARS, nous avons fait la comparaison de méthode des TROD Biosynex et Onsite :

98 échantillons de plasma répartis en 4 classes :

- ABSAC : absence d'anticorps, IgM nég, IgG nég. (MNGN). n=24
- PRES_ARN : présence d'ARN viral. n=25
- MPGP : Présence d'IgM et d'IgG. n=24
- INFAN : infection ancienne, IgM nég, IgG pos.

1. Sur l'ensemble des échantillons testés (98), le test ONSITE détecte davantage de signaux positifs que le test BIOSYNEX.

	IgM pos	IgG pos	Ag DEN pos
BIOSYNEX	16	19	28
ONSITE	26	27	31
	63%	42%	11%

2. Sur 24 échantillons négatifs en sérologie ELISA IgM et IgG, le test BIOSYNEX induit 2 faux positifs en IgM. Le test ONSITE donne des résultats concordants à 100% avec la sérologie :

Absence d'anticorps: sérologie MNGN vs.		n	total testés	concordance
BIOSYNEX		22	24	91.7%
ONSITE		24	24	100.0%

3. Sur 24 échantillons positifs en sérologie ELISA IgM et IgG, le test BIOSYNEX induit 19 faux négatifs en IgM ou IgG (6 en IgM seulement, 4 en IgG seulement, 9 en IgM et IgG). Le test ONSITE donne 2 faux négatifs sur 24 échantillons, à savoir, 1 faux négatif en IgM, 1 faux négatif en IgM et IgG.

sérologie MPGP vs.		n	total testés	concordance
BIOSYNEX		5	24	20.8%
ONSITE		22	24	91.7%

La concordance entre la sérologie ELISA et le TROD ONSITE (91.7%) permet un diagnostic des infections récentes au virus de la dengue.

TROD BIOSYNEX : défaut de performance

- Les 25 échantillons caractérisés par une présence virale sont présumés développer une antitigénémie NS1 positive.

PRES_ARN vs. Ag pos		n	total testés	concordance
BIOSYNEX		17	25	68.0%
ONSITE		23	25	92.0%

92% des échantillons testés par le TROD ONSITE sont positifs en NS1 contre 68% seulement avec le TROD BIOSYNEX. Le TROD BIOSYNEX manque de sensibilité.

- Dans le cas d'infections anciennes caractérisées par l'absence d'IgM et la présence d'IgG, aucun des TROD ne présente une performance suffisante pour une utilisation diagnostique.

Infection ancienne: MNGP vs.		n	total testés	concordance
BIOSYNEX		6	25	24.0%
ONSITE		1	25	4.0%

- Opérationnalité du TROD
 - La lecture des TROD ne doit pas être effectuée avant 20 min, ni au-delà de 25 min. Le test ONSITE possède un repère à travers lequel on peut observer l'arrivée du front de migration, ce qui correspond au délai à observer avant une lecture et dispense l'opérateur de surveiller le temps de révélation du test. Le test BIOSYNEX nécessite un chronomètre.
 - La lecture du TROD ONSITE est facilitée par une coloration plus intense et moins sujette à interprétation qu'avec le test BIOSYNEX.
 - Sur 98 échantillons testés, 6 ont nécessité une repasse avec le TROD BIOSYNEX en raison de l'absence de coloration dans la zone contrôle et ce malgré un déplacement conforme du front de migration. Dans 5 cas sur 6, le contrôle défaillant concernait le test IgM/G et dans le dernier cas, il s'agissait du contrôle NS1.

Conclusion : Le TROD ONSITE présente une performance supérieure à celle du TROD BIOSYNEX, tant pour la détection d'anticorps que pour celle de l'antigène NS1. Sa lecture est plus aisée et rend l'opérateur plus confiant dans le diagnostic des infections aiguës par le virus de la dengue.

- Novembre 2019 : dans le cadre d'un appel d'offre GHT de la Réunion : 2 kits ont été testés, aucun des deux n'a été retenu :
- TROD NS1 IgG IgM NADAL- Nal Von Minden : manque de spécificité, faux positifs en NS1 et IgG
- TROD NS IgG IgM IDEC 425- Screen Italia : manque de spécificité, faux positifs en IgG et surtout en NS1

Cette évaluation des TROD a permis de choisir le test le plus performant. L'ARS de la Réunion a mis à disposition des TROD au niveau des services des urgences des 4 hôpitaux (CHU nord, CHU sud, CHOR à l'ouest et GHER à l'est) ainsi que chez des praticiens libéraux afin d'améliorer le diagnostic de la dengue. Le diagnostic différentiel étant essentiellement le leptospirose qui circule en même temps que la dengue mais dont la prise en charge est spécifique par la mise en œuvre d'une antibiothérapie.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

2.3.1 CNR Arbovirus-IRBA

Rien à signaler en 2019-2020

2.3.2 CNR-LA-IPG

Rien à signaler en 2019-2020

2.3.3 CNR-LA-LR

Rien à signaler en 2019-2020

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 40 isolats viraux collectés en 2019-2020. Le tableau 1 résume les données d'isolement en fonction de l'origine du prélèvement.

		DEN-1	DEN-2	DEN-3	DEN-4	CHIK	TOS
Afrique	Congo					1	
	Djibouti	1				3	
	La Réunion	1	1				
	Côte d'Ivoire	1		1			
	Comores	1					
	Sénégal	2	1				
	Mayotte	3					
	Burkina Faso		2				
	Togo		1				
Amérique	Brésil					1	
	Mexique	1					
	Floride	2					
	Guyane	1					
	Paraguay				1		
Asie	Birmanie			1		1	
Caraïbes	Cuba	1					
	Guadeloupe		3	1			
	Saint Martin		1				
	Martinique			5			
Europe	France	1					1

Tableau 1. Souches virales isolées au CNR Arbovirus-IRBA en 2019-2020.

La souche de Toscana a été isolée sur un prélèvement de LCR à J+1 de la date de début des signes (céphalées, myalgies). Le patient n'avait pas voyagé et habitait Aix en Provence.

Ressources biologiques distribuées :

En 2020, le CNR Arbovirus-IRBA a partagé avec l'UMR 190 Unité des Virus Emergents (UVE) 40 sérums de patients positifs en PCR dengue pour l'évaluation d'un système de qRT-PCR en triplex pour les virus Chikungunya – Dengue – Zika.

2.4.2 CNR-LA-IPG

La collection de souches virales du CNR-LA-IPG a été enrichie de 22 isolats en 2019-2020:

- 10 isolats de virus Dengue : 1 Dengue 1, 2 Dengue 2 et 7 Dengue 3 (à partir de prélèvements positifs des Antilles et de la Guyane)
- 7 isolats de virus Mayaro (à partir de prélèvements positifs provenant de l'île de Cayenne en 2020).
- 5 isolats de virus Oropouche (épidémie de Saül en août 2020)

Ressources biologiques distribuées par le CNR-LA-IPG :

- 4 échantillons de sérums caractérisés Mayaro positifs envoyés au laboratoire CERBA à Paris (patients positifs en sérologie Mayaro avec antécédent d'infection confirmée par PCR et négatifs en neutralisation pour le virus chikungunya).
- 1 isolat de virus Zika à l'unité Inserm 1016 à l'Institut Cochin, pour l'étude de l'effet de l'infection Zika sur des neurones murins.
- 1 isolat de virus Fièvre jaune à l'unité de virologie structurale à l'IP Paris, pour l'étude de l'activité neutralisante d'anticorps humains anti fièvre jaune.

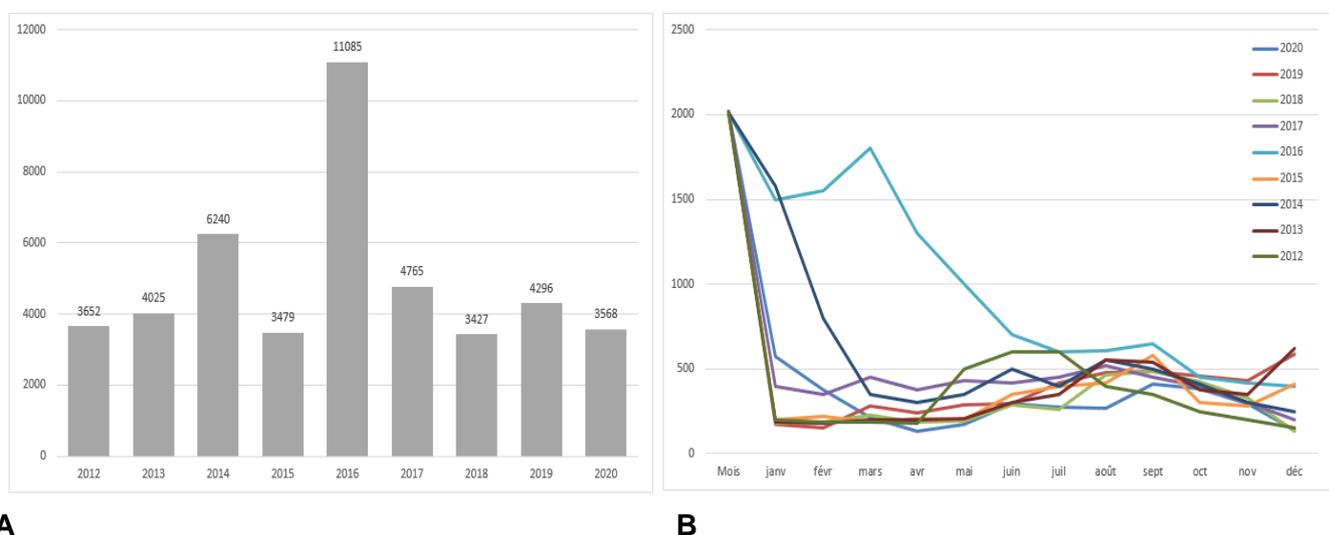
2.4.3 CNR-LA-LR

Rien à signaler

2.5 Activités d'expertise

2.5.1 CNR Arbovirus-IRBA

Le CNR Arbovirus-IRBA a reçu respectivement 4296 et 3568 prélèvements en 2019 et 2020 (Figure 4). Environ 70% des prélèvements ont été adressés par des centres hospitaliers et des hôpitaux militaires (Tableau 2). Entre 6% et 8% des prélèvements n'ont pas été analysés en raison de non conformités bloquantes, d'erreur de prescription ou de destinataire (Tableau 3). En 2019 et 2020, ont été réalisées respectivement 14575 et 11090 sérologies, ainsi que 9293 et 9374 PCR (tableau 3) soit en moyenne 7 sérologies et 3 PCR par prélèvement. Parmi les prélèvements analysés, 38% (2019) et 42% (2020) des échantillons provenaient de suspicions de cas autochtones alors que 62% (2019) et 58% (2020) étaient associés à un séjour outre-mer (Tableau 4).



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	
	2019	2020
Autre	312	607
CH CHU HIA	3061	2088
LABM	627	555
Non renseigné	24	23

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

Type d'analyse	Nb de prélèvements			
	2019		2020	
	No de prélèvements	Nb d'analyses	No de prélèvements	Nb d'analyses
Pas d'analyse	267		204	
Au moins 1 analyse réalisée	4004		3366	
Sérologie ELISA	2987	14575	2167	11090
RT-PCR	2458	9293	2543	9374
Séroneutralisation		204		165
RT-PCR + Sérologie	1448		1347	
Total de dossiers	4296		3568	

Tableau 3. Bilan du nombre de prélèvements reçus et d'analyses réalisées pour les années 2019-2020

Notion de séjour	Nb de prélèvements	
	2019	2020
Non renseigné	281	140
Hors métropole	2469	1806
Métropole (Corse incl.)	1536	1319

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

➤ **Prélèvements positifs en RT-PCR**

Pour les années 2019 et 2020, sur les 5001 prélèvements testés par PCR, 1058 se sont avérés positifs, soit un taux de positivité de 21.1%. Les détails de ces résultats sont présentés dans les tableaux 5 et 6 ci-dessous. Parmi ces positifs, 83% étaient positifs pour le virus de la dengue et 16% pour le virus chikungunya (Figure 5). A noter que les PCR positives pour le virus Chikungunya ont toutes été enregistrées en 2019 et aucune en 2020.

2019	Dengue non typée	DEN 1	DEN 2	DEN 3	DEN 4	CHIK	RVF	TOS	ZIK
Afrique									
Burkina Faso		2	2						
Comores		1							
Congo		1	1			11			
Côte d'Ivoire		4		3					
Djibouti	1	32	2			52			
Ethiopie			1						
Gabon			1						
Kenya			2						
Mali		1							
Mayotte		3	2				1		
La Réunion	3	8	22						
Sénégal		3	1						
Tchad	2								

Togo			2						
<i>total</i>	6	55	36	3	0	63	1	0	0
Amérique									
Brésil		1	1			2			
Colombie		3							
Costa Rica		1							
Guyane		3	4						
Mexique		3	3						
Perou		1							
<i>total</i>	0	12	8	0	0	2	0	0	0
Asie									
Bali					2				
Birmanie					2	1			
Cambodge		15	2						
Inde		1	2	3		1			
Indonésie	1		1						
Népal	1								
Pakistan			1						
Philippines			1	2					
Sri Lanka			1	1					
Thaïlande	5	15	27		3				1
Vietnam		1	4						
<i>total</i>	7	32	39	6	7	2	0	0	1
Caraïbes									
Cuba		1	1						
Guadeloupe	1	2	48	1					
Haïti		2							
Jamaïque				4					
Martinique		1	7	6					
République Dominicaine		2							
Saint Martin		63	1	7					
<i>total</i>	1	71	57	18	0	0	0	0	0
Europe									
Italie								1	
<i>total</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Océan Indien									
Maldives				2					
Seychelles			1						
<i>total</i>	0	0	1	2	0	0	0	0	0
Pacifique									
Polynésie		4	15						
Inconnu	1	4	11	2					
Total par virus	15	174	152	31	7	67	1	1	1

Tableau 5. Nombres de prélèvements positifs en PCR en fonction du lieu de séjour du patient (hors métropole et Corse) en 2019

2020	Dengue non typée	DEN 1	DEN 2	DEN 3	DEN 4	CHIK	TOS
Afrique							
Angola						4	
Djibouti		71		1		94	
La Réunion		1	3				
Mayotte		23	1				
Sénégal				1			
Tchad						2	
<i>total</i>	0	95	4	2	0	100	0
Amérique							
Floride		2					
Guyane		11	1				
Paraguay	1						
<i>total</i>	1	13	1	0	0	0	0
Asie							
Bali			1				
Birmanie				1			
Cambodge		1					
Inde						1	
Thaïlande		2					
<i>total</i>	0	3	1	1	0	1	0
Caraïbes							
Antilles	1	1	26	4			
Guadeloupe	3	8	43	9			
Martinique	1	3	8	76			
République Dominicaine		1					
Saint Barthelemy		8	3				
Saint Martin	3	149	17	21			
<i>total</i>	8	170	97	110	0	0	0
Europe							
Italie							1
<i>total</i>	0	0	0	0	0	0	1
Océan Indien							
Maldives		1					
<i>total</i>	0	1	0	0	0	0	0
Total par virus	9	282	103	113	0	101	1

Tableau 6. Nombres de prélèvements positifs en PCR en fonction du lieu de séjour du patient (hors métropole et Corse) en 2020

Au total pour les années 2019-2020 le CNR arbovirus-IRBA a participé à l'investigation de :

- 9 émergences de dengue autochtone (Cf paragraphe 4)
- 1 émergence de Zika autochtone (Cf paragraphe 4)
- 1 foyer de transmission alimentaire du virus TBE en métropole (Cf paragraphe 4)
- une suspicion de transmission du virus TBE via une greffe de rein (Cf paragraphe 4)
- des épidémies de Chikungunya et dengue à Djibouti (Cf paragraphe 3)
- des épidémies de dengue 1 et 2 à La Réunion (Cf paragraphe 3)
- la surveillance des sérotypes de dengue aux Antilles (Cf paragraphe 3)

2.5.2 CNR-LA-IPG

Le nombre de prélèvements reçus pour expertise, diagnostic et/ou confirmation de diagnostic d'infection par un arbovirus au CNR-LA-IPG a été de 3666 en 2019 et de 6641 en 2020 (figure 5). Le nombre et le type d'analyses réalisées sont présentés dans le tableau 7. L'augmentation d'activité en 2020 qui a été majoritairement liée à une augmentation des activités de diagnostic et typage moléculaire, s'explique par les épidémies de Dengue qui se sont déclarées sur l'ensemble des TFA, et cela même si ces activités ont été très impactées par l'émergence du SARS-CoV-2 et les tensions provoquées par l'épidémie de Covid tant sur les personnels de santé que sur les réactifs de laboratoires (avec notamment les réactifs de biologie moléculaire). Dans ce contexte, en Guyane, le CNR-LA-IPG a été le seul laboratoire à maintenir, tout au long de l'année 2020, les PCR de détection et de typage de la Dengue.

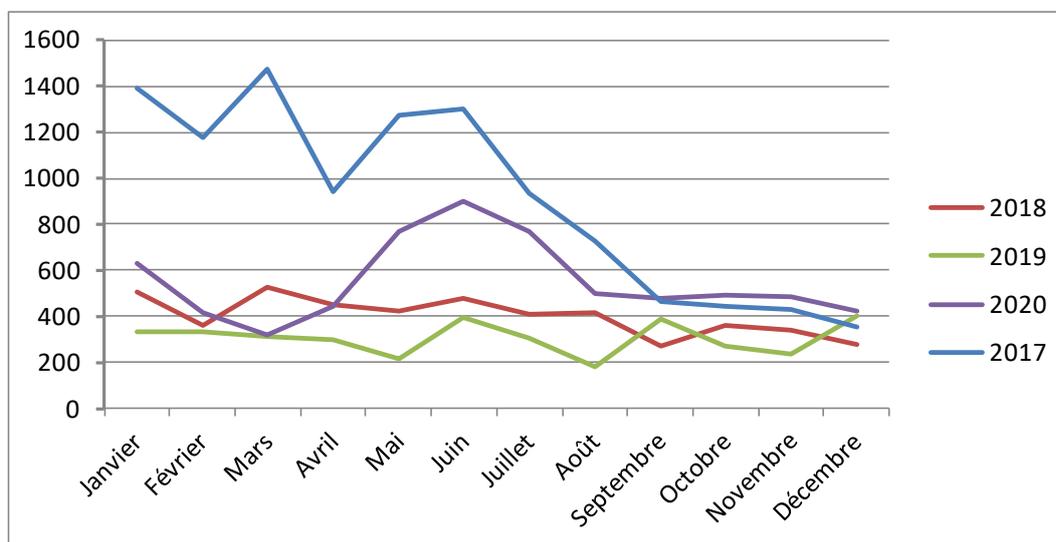


Figure 5 : Evolution du nombre mensuel de prélèvements reçus par le CNR-LA-IPG de 2017 à 2020

Type d'analyse	Nombre de prélèvements 2019 / 2020	Nombre d'analyses 2019 / 2020
Sérologie ELISA DEN, ZIKV, YF, CHIK, MAY, TON, ESL, WN	2863 / 2690	9655 / 13877
RT-PCR DEN, CHIK, ZIKV, MAY, YF, TON, ORO	1100 / 3630	3533 / 11603
Séroneutralisation		6 MNT ZIKV + 1057 YFV (étude de séroprévalence + évaluation d'immunité sur suspicion de faux carnets de vaccination) / 35 MNT Oropouche + 400 MNT DEN (1 à 4) (étude de séroprévalence)
Mise en culture		57 / 31

Tableau 7 : Bilan du nombre de prélèvements reçus et d'analyses réalisées en 2019 et 2020 par le CNR-LA-IPG

Les tableaux 8 à 10 présentent le détail des prélèvements reçus, en fonction de leur origine, ainsi que le nombre d'analyses moléculaires et/ou sérologiques réalisées et les résultats obtenus.

Les prélèvements proviennent majoritairement de Guyane. Pour les Antilles, en dehors de demandes d'expertise ponctuelles, les prélèvements ont essentiellement concerné la surveillance des sérotypes de Dengue circulants.

Aux Antilles, la surveillance des sérotypes de dengue circulants, a mis en évidence une dominance de Dengue 2 en Guadeloupe, et de Dengue 3 en Martinique. En Guyane, si l'année 2019 a été dominée par la circulation de Dengue 2 notamment à Kourou, l'année 2020 a vu s'intensifier et se généraliser la circulation de Dengue 1.

Parallèlement à l'épidémie de Dengue, différentes arboviroses ont été mises en évidence en 2019 et surtout en 2020 qu'il s'agisse du diagnostic d'infections par des virus endémiques en Guyane (virus Tonate, Mayaro ou encore Fièvre jaune) ou de première détection comme pour le virus Oropouche.

8a-

ORIGINE	Nb PCR DEN 2019	DEN pos 2019	Sérotype			Nb PCR DEN 2020	DEN pos 2020	Sérotype		
			D1	D2	D3			D1	D2	D3
Guadeloupe						250	237	27	184	26
Saint Barth.						6	5	1	4	
Martinique	57	46	1	12	33	184	173		28	145
Guyane	909	194	63	131		3108	1501	1306	182	13
CH Cayenne	317	18	13	5		67	36	27	6	3
CH Saint Laurent	86	11	8	3		72	42	35	7	
Labo Kourou	143	120	6	114		471	310	191	119	
Centres de Santé	71	34	33	1		129	106	106		
Labos Ile de Cayenne	218	8	3	5		2059	931	878	43	10
Labo Saint Laurent	0					256	59	54	5	
CMIA	74	3		3		54	17	15	2	
Total général	966	240	64	143	33	3548	1916	1334	398	184

8b-

ORIGINE	PCR : Nbre de plvts testés 2019			Positifs 2019	PCR : Nbre de plvts testés 2020				Positifs 2020
	Tonate	Mayaro / Oropouche	Fièvre Jaune		Tonate	Mayaro / Oropouche	Fièvre Jaune	SLE, WN, Rocio	
Guadeloupe					4*				2* Tonate
Guyane	498	549	11	3 Tonate 1 Mayaro	16	177	6	3	14 Mayaro 11 Oropouche 2 Fièvre jaune
CH Cayenne	132	142	8	1 Tonate	4	12	2	1	2 Mayaro 1 Oropouche 2 Fièvre jaune
CH Saint Laurent	69	71	1	1 Tonate 1 Mayaro	7	14	1	1	
Labo Kourou	20	22	1		1	10	0		1 Mayaro
Centres de Santé	16	15			0	20	3		1 Mayaro 9 Oropouche
Labos Ile de Cayenne	192	228	1		4	109	0	1	10 Mayaro
Labo Saint Laurent	1	1			0	11	0		
CMIA	68	70		1 Tonate	0	1	0		1 Oropouche

Tableaux 8 a et b: Prélèvements reçus en 2019 et 2020 en fonction de leur origine avec bilan des analyses moléculaires réalisées, Dengue (8a) et autres que Dengue (8b), et résultats de ces analyses (PCR simplex ou multiplex en fonction des cibles)

SLE = virus de l'Encéphalite Saint Louis , WN = virus West Nile,

*prélèvements d'une même patiente originaire de Guyane et transférée en réanimation en Guadeloupe pour un tableau d'encéphalite aigue.

9a

ORIGINE	Total plvts reçus en 2019	Nb tests IgM "panel arbo"	Résultats sérologies IgM "panel arbo"										Nb plvts testés WN et SLE	IgM WN et 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 alph a*	IgM Flavi + alph a*	Neg				Pos	
Martinique	58	1	1										1WN et 1SLE	0	1	1	
Guyane	3608	1240	1079	40	38	8	46	8	13	2	6	1 WN	0	1240	968	272	
CH Cayenne	983	439	373	20	14	4	15	3	6	1	3			439	332	107	
CH Saint Laurent	877	117	98	4	3	0	8	2	1	0	1	1 WN	0	117	80	37	
Labo Kourou	239	13	12			0			1	0	0			13	12	1	
Centres de Santé	361	111	99	7	1	0	1	2	1	0	0			111	85	26	
Labos Ile de Cayenne	985	504	447	9	15	4	21	1	4	1	2			504	403	101	
Labo Saint Laurent	31	4	4			0				0	0			4	4		
CMIA	122	52	46		5	0	1			0	0			52	80		
CROIX ROUGE FRANCAISE	10	0	0			0				0	0			0	830		
Total général	3666	1241	1080	40	38	8	46	8	13	2	6	3	0	1241	969	272	

9b

ORIGINE	Total plvts reçus en 2020	Nb tests IgM "panel arbo"	Résultats sérologies IgM "panel arbo"										Nb plvts testés IgG Chik	Résultats IgG	
			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	254	0											0		
CHU Pointe à Pitre	4														
Laboratoire de ville	250														
Saint Barth. (ville)	6	0											0		
Martinique (ville)	184	0											0		
Guyane	6197	2087	1556	94	122	202	104	15	9	2	17	2087	1788	299	
CH Cayenne	1270	1042	814	49	52	61	62	8	5		9	1042	862	180	
CH Saint Laurent	480	202	156	7	17	12	7	1	2			202	157	45	
Labo Kourou	511	8	5		2		1	1			1	8	6	2	
Centres de Santé	413	254	196	10	14	21	13	1	1		2	254	229	25	
Labos Ile de Cayenne	2988	484	324	27	25	86	20	4	1	2	5	484	442	42	
Labo Saint Laurent	395	4	4									4	2	2	
CMIA	140	93	57	1	12	22	1					93	90	3	
Total général	6641	2087	1556	94	122	202	104	15	9	2	17	2087	1788	299	

Tableaux 9a et b : Prélèvements reçus en 2019 (9a) et 2020 (9b) 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 en 2019	Sérologie Zika		Total plvts reçus en 2020	Sérologie Zika			
		Nbre Plvts testés	% IgM Pos		% IgG Pos	Nbre Plvts testés	% IgM Pos	% IgG Pos
CH Cayenne	983	535	5,6%	67,9%	1270	451	6,2%	65,4%
CH Saint Laurent	877	777	4,8%	75,3%	480	369	8,1%	69,1%
Labo Kourou	239	89	2,2%	76,4%	511	25	8,0%	88,0%
Centres de Santé	361	224	3,6%	54,9%	413	100	11,0%	62,0%
Labos Ile de Cayenne	985	511	3,9%	57,5%	2988	366	8,2%	60,7%
Labo Saint Laurent	31	27	7,4%	77,8%	395	2	0,0%	50,0%
CMIA	122	43	0,0%	4,7%	140	42	21,4%	28,6%
CROIX ROUGE FRANCAISE	10	0	0,0%	40,6%				
Guyane (total)	3608	2206	4,5%	66,0%	6197	1355	8,1%	64,1%

Tableau 10 : Prélèvements reçus en 2019 et 2020 en fonction de leur origine avec **bilan des analyses sérologiques Zika** réalisées et résultats de ces analyses

Au total en 2019-2020, le CNR-LA-IPG :

- a participé à la détection et la surveillance des épidémies de dengue dans les TFA.
- a également identifié, en dehors des cas de Dengue, et dans le cadre de ses activités d'expertise:
 - 2 cas de Fièvre Jaune (2 cas mortels détectés respectivement en juillet et octobre 2020) : cf Alerte & 4.2
 - 4 cas d'infection par le virus Tonate (avec 5 prélèvements positifs) : 3 cas en 2019 (parmi lesquels un premier cas d'infection congénitale par le virus Tonate détecté en août 2019 suite à la mise en évidence à l'échographie fœtale de la 20eme semaine de gestation, d'importantes anomalies cérébrales et d'une arthrogrypose), et 1 cas en 2020 (patient originaire de Guyane, transféré en réanimation en Guadeloupe pour un tableau d'encéphalite).
 - 11 cas d'infections par le virus Oropouche en août 2020, qui constituent les 1ères détections de ce virus en Guyane (cf Alerte & 4.2)
 - et 15 cas d'infections par le virus Mayaro (1 en 2019 chez une femme enceinte de Saint-Laurent du Maroni et 14, provenant en majorité de l'île de Cayenne, en 2020 (cf Alerte & 4.2)
 -

En 2020, le délai moyen de restitution des résultats aux laboratoires a été de 2.5 jours ouvrables par rapport à la date de réception au laboratoire pour les analyses moléculaires (PCR Dengue) 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.

L'augmentation des délais de rendu des analyses moléculaires en 2020 s'explique au moins en partie par la surcharge de travail du laboratoire de virologie en lien avec l'épidémie de COVID-19.

2.5.3 CNR-LA-LR

Avec le passage à la Nomenclature des RT-PCR Dengue et Chikungunya, les laboratoires privés ont développé ces analyses. Dans le même temps, la fusion des laboratoires nord et sud

du CHU a permis de centraliser toute l'activité du CHU au nord.

	2018	2019	2020
RT-PCR dengue	4 538	3 477	4317
RT-PCR Chik	1 327	686	552
Sérologie dengue	653	1 920	3226
Sérologie chik	219	448	447

Tableau d'activité 2018-2020

En 2019, sur les 3 477 RT-PCR dengue, 616 se sont révélées positives.

Nous avons réalisé le typage de dengue sur un échantillonnage récupéré sur l'ensemble des prélèvements positifs de la Réunion en lien avec Santé Publique France afin d'avoir une représentativité de l'épidémie. 728 typages ont été réalisés : 128 du sérotype DENV1, 524 du sérotype DENV2 et 4 de sérotype DENV3. Nous avons cette année montré la cocirculation des 3 types DENV1, DENV2 et l'apparition en fin d'année du sérotype DENV3 ainsi que la persistance de la circulation de la dengue durant l'hiver austral, confirmant l'endémicité de la maladie. La sérologie dengue a retrouvé 64 sérums avec des IgM+ et des IgG-, et 136 sérums IgM+ et IgG+

Nous avons diagnostiqué 3 cas importés de chikungunya (1 du Congo et 2 de Thaïlande). Pas de circulation de Chikungunya à la Réunion.

En 2020, sur les 4317 RT-PCR dengue, 712 se sont révélées positives. Nous avons réalisé 1172 typages dont 483 pour les laboratoires extérieurs à la demande de SPF : 986 du sérotype DENV1, 167 du sérotype DENV2 et 42 du sérotype DENV3. L'endémicité de la dengue s'est confirmée avec une détection constante du sérotype DENV1 sur toute l'année, et qui a repris dès le mois de janvier 2021. Le sérotype DENV2 n'est presque plus détecté à partir du mois de juillet, et en effet n'a pas été détecté durant les premiers mois de 2021. 42 sérotypes DENV3 ont été détectés de janvier à juin 2020 de façon groupée.

3226 sérologies dengue ont été effectuées : 611 avaient des IgM : 190 IgM seuls, 421 IgM + IgG permettant de poser le diagnostic pour les cas déclarés tardivement avec une RT-PCR négative. 762 présentaient une immunité probablement ancienne, avec de IgG et sans IgM.

Nous n'avons pas détecté de cas de Chikungunya : 552 RT-PCR négatives, quelques sérums avec des taux faibles ou limites en IgM chez des patients connus ou dans le cadre d'une stimulation polyclonale (non confirmée sur un deuxième sérum).

Zika : 4 prélèvements négatifs en RT-PCR et sérologie, chez des sujets provenant de pays d'endémie.

2 demandes de RT-PCR West-Nile et 4 de Fièvre de la vallée du Rift, tous négatifs.

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^{er} 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 2019-2020, le CNR Arbovirus-IRBA a produit 68 séquences virales :

- 1 souche de Chikungunya de Djibouti
- 60 séquences complètes de dengue (dont 1 cas autochtone en France métropolitaine en 2020, et 14 souches pour le CNR-LA-LR)
- 7 séquences partielle de dengue (charges virales trop faibles pour une séquençage complet)

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. Malheureusement, la demande est très supérieure à l'offre (1,2 ETP dédié) et les CNR ne peuvent donc pas être aidés simultanément. Les CNRs et les unités qui les hébergent doivent donc faire appel à des ingénieurs ou bio-informaticiens membres de leur équipe de recherche ou employés sur contrat dédié. Par ailleurs, le nombre d'ETP de bio-informaticiens affecté à la plateforme dédiée aux CNRs fait l'objet d'une négociation interne annuelle.

Par ailleurs, dans le cadre de projets de recherche (voir & 6.1.2.4 FEDER EFAG), le CNR-LA-IPG prévoit, en collaboration avec le laboratoire « Interaction 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 2019 et 2020, les activités de séquençage réalisées dans le cadre des activités de Santé Publique et d'expertise du CNR, ont permis le séquençage par technique classique de séquençage - Sanger:

- 4 isolats de virus Mayaro parmi lesquels 3 virus détectés en 2017 et isolés en 2018 (séquençage complet) en 2019.
- 1 virus Fièvre Jaune en 2020 correspondant au cas mortel diagnostiqué en juillet 2020. Les résultats préliminaires montrent que ce virus appartient au même cluster que les souches guyanaises détectées depuis 2017 et une souche du Suriname de 2017 (cluster distinct des souches circulant au Brésil depuis 2016 et dont les séquences sont disponibles dans les banques).
- 19 souches de Dengue 1 (1 de Martinique (janv 2019) et 18 de Guyane collectées d'août 2019 à mai 2020) et de 10 souches de Dengue 2 (1 de Martinique (oct 2019) et 9 de Guyane collectées de juin 2019 à avril 2020) : séquençage partiel réalisé en 2020.

En 2020, a également été réalisé en collaboration avec la plateforme Biomix C2RT, IP Paris (M. Monot), le séquençage du virus Oropouche par **NGS (technique Illumina MiSeq)**.

2.6.3 CNR-LA-LR

Envoi au CNR Coordonnateur pour séquençage 5 prélèvements de dengue 1 et 9 prélèvements de dengue 2.

Devant l'endémicité et la répétition de nos épidémies de dengue (en plus du Covid), le projet de séquenceur a été validé. Nous avons installé en avril 2021 un GridION d'Oxford nanopore. Les premiers essais menés par notre ingénieur Etienne Frumence en utilisant le protocole de Stubbs (Virol J. 2020 Feb 13;17(1):24) ont été concluants. Nous devons mettre en place un contrôle qualité de nos séquences avec le CNR Coordonnateur afin de valider notre séquençage de la dengue.

3 Activités de surveillance

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 6). 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 6. 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.

Sur l'ensemble de l'année, la surveillance épidémiologique pour les virus Chikungunya, de la dengue, et du zika est basée sur la déclaration obligatoire des cas probables et confirmés. Durant la période d'activité du vecteur *Aedes albopictus* (1^{er} mai au 30 novembre), la surveillance est renforcée par un suivi quotidien des résultats d'analyses des laboratoires par Santé Publique France et par la possibilité de signaler les cas confirmés ou probables aux ARS. Jusqu'en 2019, la surveillance « renforcée » s'exerçait uniquement dans les départements où le vecteur *Aedes albopictus* était implanté et actif. Depuis 2020, tous les départements français sont considérés à risque et l'ensemble du territoire national est soumis au protocole de surveillance renforcée pendant la période d'activité du vecteur (instruction N° DGS/VSS1/2019/258 du 12 décembre 2019 relative à la prévention des arboviroses)

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 TFA (territoires français des Amériques), la surveillance des arboviroses repose sur une surveillance menée en partenariat avec les cellules Santé Publique France 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 les cellules Santé Publique France 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 des virus Dengue, Chikungunya et Zika a été associée ces dernières années à une nette diminution des prélèvements reçus au CNR-LA-IPG pour les demandes de diagnostic biologique de première intention de ces arboviroses. En conséquence, en l'absence d'une surveillance sentinelle spécifique, la surveillance de la circulation des autres arbovirus est limitée car le CNR n'a qu'un accès restreint à des prélèvements précoces pour la recherche d'autres arboviroses.

En 2020, du fait d'une situation épidémiologique particulière associant la pandémie de COVID et l'épidémie de Dengue en Guyane, l'ensemble du système de surveillance et de soins a été très perturbé. Du fait de la surcharge de travail de l'ensemble des laboratoires, le CNR-LA-IPG a été le seul laboratoire à maintenir le diagnostic de la Dengue par PCR et a ainsi été amené, afin d'améliorer les délais de rendu de résultats jusqu'alors réalisés en métropole, à recevoir les demandes de diagnostic de la Dengue en provenance des laboratoires Eurofins de Guyane.

Cette situation particulière pourrait expliquer, au moins en partie, le fait qu'en 2020, malgré une diminution du nombre de PCR de détection des arboviroses autres que la Dengue réalisées, le nombre d'arboviroses détectées a été multiplié par un facteur 7 avec notamment la détection d'une circulation « inhabituelle » de virus Mayaro sur l'île de Cayenne.

3.1.3 CNR-LA-LR

Description des partenaires

Les partenaires sont :

- Equipe de la CIRE Océan Indien avec transmission par Fax automatisée de tous les résultats positifs
- 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.

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-Novembre), 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 2019-2020, le CNR Arbovirus-IRBA a reçu 2319 prélèvements dans le cadre de la surveillance renforcée du mois de Mai au mois d'Octobre (inclus), pour les départements d'implantation du moustique *Aedes albopictus* (départements de niveau 1, en 2019).

Pendant cette période, le CNR Arbovirus-IRBA a participé au diagnostic et à la confirmation des cas importés et surtout des cas autochtones. Lorsque cela est biologiquement possible (charge virale suffisante), il effectue le séquençage et l'analyse phylognétique des souches virales incriminées. La description des foyers autochtones est traitée au paragraphe 4.

➤ Epidémie de dengue dans les Antilles Française en 2019

Le CNR a contribué à la surveillance de l'épidémie de dengue dans les Antilles, notamment en effectuant le sérotypage des souches. Le CNR a obtenu une PCR positive pour 518 prélèvements :

- 251 provenant de Saint Martin : 202 dengue 1, 18 dengue 2, 29 dengue 3, 2 non typables
- 100 provenant de Martinique : 3 dengue 1, 13 dengue 2, 83 dengue 3
- 41 provenant de Guadeloupe : 10 dengue 1, 89 dengue 2, 10 dengue 3

- 32 provenant des Antilles (sans plus de précision) : 1 dengue 1, 26 dengue 2, et 4 dengue 3
- 11 provenant de Saint Barthélémy : 8 dengue 1, 3 dengue 2
- provenant de Guyane : 9 dengue 1, 1 dengue 2
- provenant République dominicaine : 3 dengue 1

Le suivi dans le temps des sérotypes de dengue sur la base des données du CNR Arbovirus-IRBA est représenté sur la figure 7. Le sérotype 2 était majoritaire en Guadeloupe, le sérotype 3 majoritaire en Martinique et le sérotype 1 majoritaire à Saint Martin.



Figure 7. Evolution temporelle des sérotypes de dengue à Saint Martin, Martinique et Guadeloupe (échantillons reçus au CNR)



➤ **Dengue à La Réunion 2019-2020**

Après la l'émergence de la dengue 2 en 2018 à La Réunion, uné épidémie de dengue 1 s'est déclarée en 2019. Le CNR arbovirus -IRBA a ainsi reçu et analysé 191 prélèvements (2019 et 2020) de patients résidant sur l'île ou à leur retour de voyage. Les PCR étaient positives pour 29 d'entre eux (7 sérotype 1, 21 sérotype 2).

➤ **Epidémie de fièvre de la vallée du Rift à Mayotte en 2019**

Le CNR a participé à la surveillance de l'épidémie de Fièvre de la Vallée du Rift à Mayotte : 63 patients suivis (2 prélèvements par patients).

➤ **Epidémie de Chikungunya à Djibouti en 2019-2020**

Le CNR arbovirus-IRBA a été mis à contribution en 2019 pour le suivi d'une épidémie de Chikungunya sur la base de défense de Djibouti. Le CNR a analysé 364 échantillons biologiques, 84 d'entre eux étaient positifs en RT-PCR pour le virus Chilungunya et 60 pour le virus de la dengue (sérotype 1). L'épidémie de Chikungunya a été suivie par celle de la dengue (Figure 8).

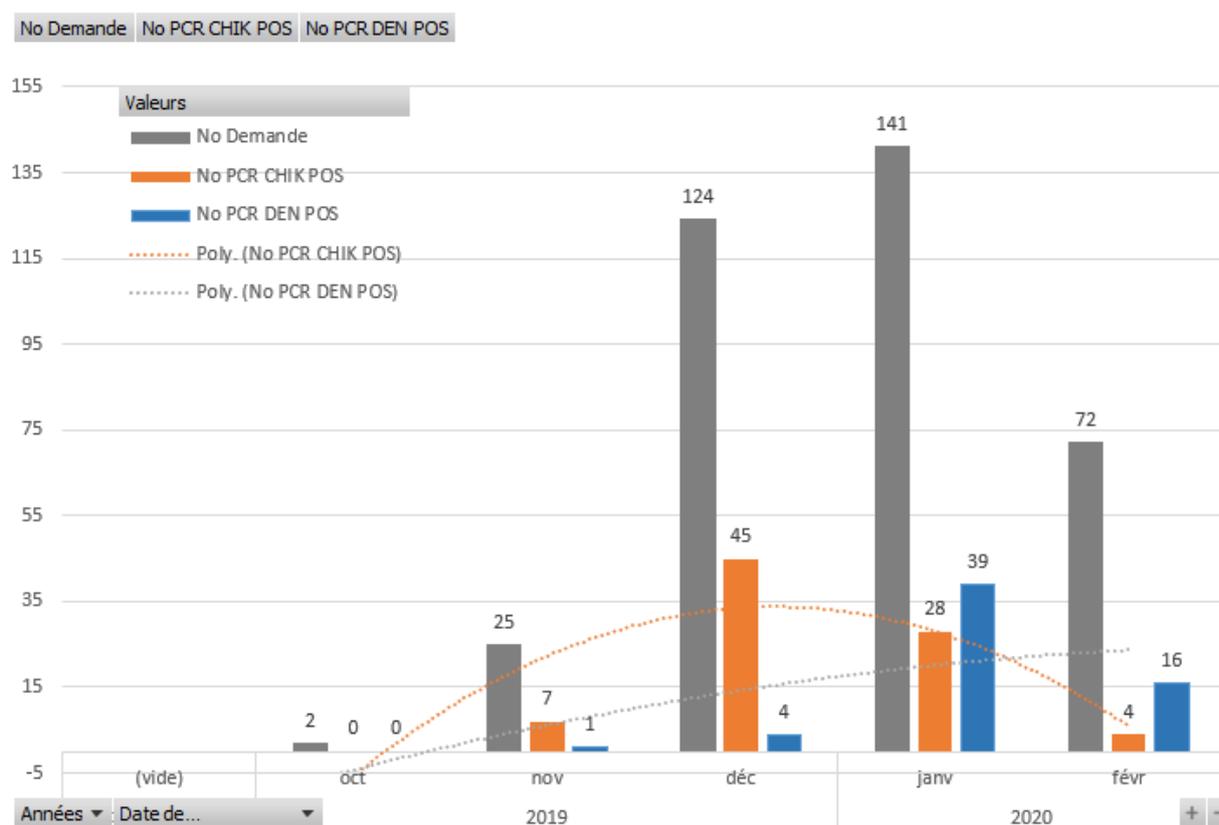


Figure 8. Epidémie de Chikungunya à Djibouti

➤ **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 par communication directe.

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

La circulation du virus West-Nile s'est avérée plus faible en 2019-2020 qu'en 2018. En effet, seuls 2 cas en 2019 ont été détectés dans le Var avec une forme neuro-invasive.

➤ **Foyer de TBE dans l'Ain en 2020 : contamination par voie alimentaire**

Le CNR a été sollicité dans l'investigation d'un foyer de méningite lymphocytaire sans étiologie dans l'Ain. Au total 41 cas d'infections par le virus TBE ont été confirmés et 2 ont été classés comme probables. Les confirmations ont été faites biologiquement par recherche d'anticorps IgM et IgG dans le LCR et le sang, et par séroneutralisation pour certains échantillons. L'origine de la contamination était alimentaire par consommation de fromage de chèvre non pasteurisés vendus sur le marché. Le CNR arbovirus-IRBA, en collaboration avec l'ANSES, a montré la présence du génome viral dans 7 des 103 fromages testés, et la présence d'anticorps (IgM n=1, IgG n=5) dans le sang des chèvres du troupeau du producteur local. A la suite de ce cluster, des recommandations pour la prévention du risque de transmission par voie transfusionnelle, greffe d'organe, et don de cellules souches hématopoïétiques ont été publiées (avis de HSCP du 23/07/20, directive de l'agence de biomédecine du 27/08/20). Le CNR s'est ainsi vu confié la qualification des dons pour les personnes résidant en zone à risque (France métropolitaine et autres pays).

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'épidémie et émergences quasi ininterrompues de 2012 à 2016, une période inter-épidémique a été observée en 2017 et 2018. En 2019, la surveillance a permis de mettre en évidence, après la détection de différents cas importés, une reprise d'une circulation autochtone de la Dengue aboutissant fin 2019 ou début 2020 à une situation épidémique sur tous les territoires.

Le tableau ci-dessous présente les différentes caractéristiques des épidémies en fonction des territoires (source PE SPF Antilles et Guyane), même si les résultats de la surveillance sont à interpréter avec précaution compte tenu du contexte d'alerte lié à la pandémie de Covid-19 depuis mars 2020 : similitudes des tableaux cliniques, priorisation du diagnostic Covid-19, retard dans les diagnostics non Covid et modifications des stratégies de diagnostic dans un contexte de tension sur les réactifs ayant en effet pu entraîner une sous estimation des cas.

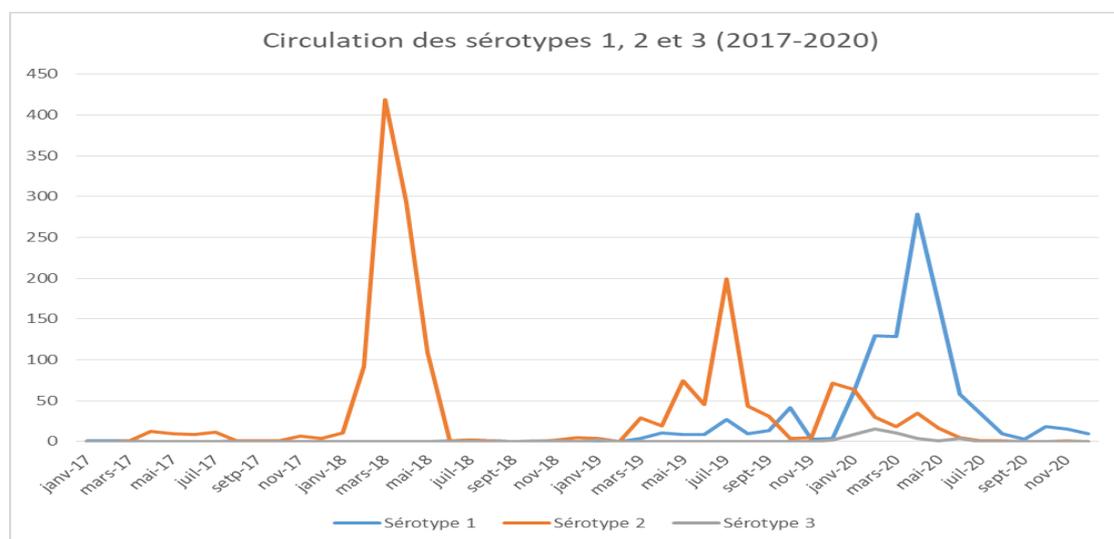
	Martinique	Guadeloupe	Saint Martin	Saint Barthélemy	Guyane
Début d'épidémie (année-semaine)	2019-45	2019-42	2020-03	2020-17	2020-12 Maroni 2020-16 Kourou 2020-20 Cayenne et littoral Ouest 2020-37 intérieur et littoral Est
Bilan janvier 2021	épidémie en cours	épidémie en cours	épidémie en cours	épidémie en cours	épidémie en cours
Sérotype	DENV-3 (92%) DENV-2 (7%) DENV-1 (1%)	DENV-2 (65%) DENV-1 (20%) DENV-3 (15%)	DENV-1 majoritaire	DENV-1 majoritaire	DENV-1 (82%) DENV-2 (17%) DENV-3 (<1%)
Nb de cas estimés	32 650	22 800	2 700	1 435	11 330
Nb de Décès	17	2	1	-	4

Aucun cas d'infection par les virus Chikungunya et Zika n'a été détecté sur toute la période.

3.2.3 CNR-LA-LR

Depuis 2015, la surveillance des arbovirus à la Réunion concerne essentiellement la dengue avec les premiers foyers de cas autochtones. Cette surveillance est réalisée au moyen d'outils moléculaires (RTPCR, sérotypage) et de sérologie. Habituellement, la circulation de dengue s'interrompt durant l'hiver austral (juin-juillet à octobre). L'année 2017 marquée par un hiver austral particulièrement doux a été caractérisée par une circulation à bas bruit de la dengue de type 2. Nous observons depuis une succession d'épidémies de dengue 1 et 2, accompagnée ou pas d'une circulation moins importante du sérotype 3.

En 2019, le sérotype DENV2 était majoritaire accompagnée d'un bruit de fond lié au sérotype DENV1. 2020 a vu le switch avec une épidémie DENV1 qui a remplacé DENV2 accompagnée d'une petite circulation de DENV3.



Circulation à la Réunion des sérotypes 1, 2 et 3 de la dengue entre 2017 et 2020

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 Guyane, 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.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

3.5.1 CNR Arbovirus-IRBA

Rien à signaler

3.5.2 CNR-LA-IPG

Poursuite du 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 & 6.1.2.3 FEDER EPI-Arbo.

3.5.3 CNR-LA-LR

Rien à signaler

4 Alerte

4.1 CNR- Arbovirus-IRBA

➤ Transmission vectorielle du virus Zika à Hyères en 2019 : 3 cas

Le CNR-Arbovirus IRBA a été sollicité fin septembre 2019 pour la confirmation d'une sérologie positive IgM et IgG Zika, avec PCR faiblement positive, d'une habitante de Hyères qui n'avait pas voyagée. La date de début des signes était le 15 août 2019. Le CNR a confirmé ce cas par séroneutralisation. L'analyse retrospective de prélèvements antérieurs ont permis de retracer la séroconversion de la patiente, et de confirmer l'infection par PCR. Une analyse génétique d'une séquence virale partielle a permis de démontrer l'origine Sud Asiatique de cette souche. L'investigation conduite par Santé Publique France dans le quartier autour de cette patiente a permis de diagnostiquer au CNR deux cas supplémentaires, puis une vaste enquête en porte à porte a été réalisée, permettant le recueil de 234 échantillons sanguins. Un personnel du CNR a participé à cette enquête au cours de laquelle dans prélèvements sanguins réalisés au bout du doigts ont été recueillis sur papier buvard (méthode du CNR arbovirus-IRBA). Cette technique peu invasive permet un recueil au domicile. Le CNR Arbovirus-IRBA a facilité l'investigation autour de 8 cas suspects présentant des IgG dirigés contre les flavivirus, afin d'explorer le signal sérologique par séroneutralisation (envoi d'ordonnances de prélèvements sanguins classique par courrier postale). Aucune infection par le virus Zika n'a été détectée chez ces 8 cas suspects. Une enquête parallèle menée par l'EFS a permis d'analyser 173 échantillons sanguins provenant de donneurs localisés dans la commune de Hyères durant le mois d'août 2019. La séroneutralisation sur les deux seuls prélèvements IgG positifs pour les flavivirus s'est avéré négative pour le virus Zika. Ces deux enquêtes n'ont pas permis de retrouver le cas index, ni de démontrer une circulation importante du virus dans le quartier concerné, malgré une participation importante de la population. Il s'agit cependant du premier épisode de transmission vectorielle de Zika par *Aedes albopictus* en Europe. Cette investigation a été valorisée par deux publications

scientifiques (S. Giron *et al.*, Eurosurveillance ; G.A. Durand *et al.*, Viruses).

➤ **Cas autochtones de dengue en 2019 : 3 foyers**

- Emergence dans les Alpes-Maritimes : 7 cas

Déclaration le 13/09 d'un cas présentant des IgM isolées dirigées contre le virus de la dengue. Il s'agissait d'un patient résidant à Vallauris, sans notion de voyage, ayant présenté des symptômes le 30/08. Le CNR a confirmé le cas le 18/09 avec une qRT-PCR DENV-1 positive. La petite fille de ce cas avait présenté une PCR DENV-1 positive à son retour de Thaïlande (date de début des symptômes (DDS) au 11/07). L'enquête épidémiologique a retrouvé au total 7 cas autochtones confirmés autour de ce cas importé.

- Cas autochtone dans le Lot : 1 cas

Le 19/07 Biomnis signale un cas de dengue (IgM et IgG positives à J+17) pour une patiente habitant dans le Lot. Ce cas a été confirmé par le CNR. La patiente rapporte un antécédent de dengue à La Réunion dans les années 70. Devant une symptomatologie peu évocatrice de dengue (DDS au 28/06), une absence d'*Aedes albopictus* lors de la prospection entomologique, et une sérologie évocatrice d'une infection récente à flavivirus sans plus de détail, le CNR a poursuivi les investigations par séroneutralisation notamment afin d'éliminer un WNV. Le profil de séroneutralisation était en faveur d'une récente dengue secondaire. L'origine géographique de la contamination n'a pas pu être déterminée précisément (lieu de travail Cahors, vacances dans le Tarn-et-Garonne. Suite à ce cas, un avis en date du 28/08/19 a été publié par le HSCP.

- Emergence à Caluire-et-Cuire (Rhône) : 1 cas confirmé, 1 cas suspect

Un cas suspect de dengue, présentant IgM et IgG dengue chez Cerba, a été signalé le 16/09. Il s'agissait d'un patient résidant à Caluire-et-Cuire, sans notion de voyage, ayant présenté des symptômes évocateurs le 14/07. Un cas importé du Cambodge a rapidement été identifié (DDS 30/06), habitant moins de 100m du cas. Ce dernier présentait une sérologie en faveur d'une infection récente à flavivirus. L'enquête épidémiologique a été conduite rapidement. Le CNR a infirmé le cas autochtone initial à l'origine de l'alerte (absence d'IgM, présence d'IgG flavivirus, sur deux prélèvements temporellement différents). En revanche, l'enquête en porte à porte a permis d'identifier un autre cas présentant des IgM et IgG positifs et habitant dans le rayon de 100m du cas importé. Cette personne avait présenté des symptômes au 05/08. Le prélèvement avait été réalisé sur papier buvard (technique CNR) au décours de l'enquête, et analysé au CNR. Par la suite un prélèvement de contrôle a été réalisé, et la séroneutralisation a retrouvé une dengue de sérotype 1.

➤ **Cas autochtones de dengue en 2020 : 6 foyers**

En 2020, 13 cas autochtones répartis sur 6 émergences ont été identifiés malgré le contexte de pandémie de COVID-19, et les restrictions de déplacement en lien.

- Emergence à Nice : 5 cas

Signalement le 21/08 par Biomnis d'un cas suspect présentant des IgM isolées, confirmé par le CNR le 28/08 (sérologie IgM) et le 04/09 (séroconversion). Le patient avait débuté ses symptômes le 11/08 et l'enquête épidémiologique a montré que le patient n'avait pas voyagé dans les 15 jours précédents. Une LAV suivie d'un enquête de terrain a permis d'investiguer 173 foyers à proximité, et d'identifier un deuxième cas autochtone, voisin de 50 mètres, positif en RT-PCR.

Trois cas additionnels ont ensuite été identifiés dans un rayon de 500 mètres. Les RT-PCR réalisées retrouvaient un sérotype 2. Une séquence virale complète a pu être obtenue et l'analyse phylogénétique a montré qu'il s'agissait d'une souche de Dengue 2 issue de l'épidémie concomitante sur l'île de La Réunion.

- Emergence à Saint Laurent du Var : 2 cas

Signalement le 02/10 par le CNR d'un cas confirmé de dengue, avec un test NS1 positif et des IgM isolées. L'enquête épidémiologique a montré sur le patient résidait à Saint Laurent du Var, à 6km de l'émergence de Nice. La date de début des signes était le 19/09, et le patient n'avait pas de voyagé. Un deuxième cas a été identifié par le rattrapage labo. Il présentait une RT-PCR DENV-1 positive. Un troisième cas initialement NS1 positif a été infirmé par le CNR sur la base d'une sérologie négative à J+24. Malgré la proximité spatio-temporelle avec l'émergence de Nice, la discordance de sérotype a permis de conclure à foyer distinct.

- Emergence à la Croix-Valmer : 3 cas

Via son réseau de laboratoires européens, le CNR arbovirus-IRBA a reçu début septembre un signalement de cas confirmé de dengue chez une touriste des Pays-Bas de retour de séjour à la Croix-Valmer. Ses symptômes avaient débuté le 02/08, et les tests effectués aux Pays-Bas à j23 montraient une sérologie positive en IgM et IgG. L'une des personnes qui l'accompagnait avait également présenté des symptômes évocateurs. Les analyses sérologiques effectuées au Pays-bas sur ce patient ont également confirmé une infection par la dengue. Suite à la recherche active de cas réalisée sur place par la CIRE, une troisième personne qui avait passé ses vacances sur place et avait été symptomatique s'est signalée spontanément. Un prélèvement sanguin a été transféré au CNR arbovirus-IRBA qui a confirmé l'infection avec une sérologie IgM et IgG positive.

- Cas autochtone à Cessenon-sur-Orb (Hérault) : 1 cas

Rattrapage laboratoire d'un patient résidant dans l'Aveyron ayant séjourné dans une location dans l'Hérault (début des signes 17/07). Un test NS1 réalisé chez Biomnis (29/07) a été confirmé par une PCR positive dengue 1 au CNR (30/07), ainsi qu'une séroconversion le 31/07. L'enquête épidémiologique a permis de retrouver le cas importé : il s'agissait de la fille de la propriétaire de la maison de location. Celle-ci a présenté une dengue 1 au retour du Costa Rica (début des signes 23/06). Elle a résidé dans la maison de location durant sa période virémique.

- Cas autochtone à Saint Jean de Valériscle (Gard) : 1 cas

Rattrapage laboratoire le 16/09 d'une patiente présentant des IgM dengue isolées (début des signes 31/08). Le CNR a confirmé ce cas par la présence d'IgM sur le prélèvement initial, puis d'une séroconversion sur un deuxième prélèvement. Le cas importé possible serait la fille du cas, qui a présenté des signes évocateurs de dengue (03/08) au retour de Guadeloupe (02/08). Le CNR a retrouvé des IgM et IgG flavivirus sur un prélèvement à 1 mois de la DDS.

- Cas autochtone à Montpellier ou Cabrieres (30) : 1 cas

Un patient qui a séjourné à Montpellier (22-25 aout) puis Cabrieres (25-28 aout) avant de retourner ensuite en Saone et Loire, avec une date de début des signes au 03/09. Le CNR a confirmé le diagnostic de dengue 2 ainsi que la séroconversion du patient.

➤ **Risque de transmission nosocomiale du virus TBE par greffe de rein en 2020**

Dans le cadre de son activité de qualification de greffe, le CNR arbovirus-IRBA a détecté une sérologie IgM et IgG positive pour le virus TBE, PCR négative, chez un donneur décédé. La datation de l'infection était impossible. Un receveur a bénéficié d'un rein issu de ce donneur. Devant l'existence de cas rapportés dans la littérature de transmissions du virus TBE par greffe d'organe avec une mortalité de 100% chez les receveurs, une réunion d'expert a été rapidement mise en place afin de définir la conduite à tenir. Dans le cadre d'un protocole encadré par l'ANSM, une sérothérapie issue de donneurs volontaires présentant des anticorps neutralisants a été administrée. Le receveur est resté négatif en sérologie et PCR.

4.2 CNR-LA-IPG

➤ **Détection de 2 nouveaux cas de Fièvre jaune en 2020 :**

Un premier cas mortel a été détecté en juillet 2020 chez un jeune amerindien né en 2005 et vivant sur le haut maroni. Malade depuis 9 jours il avait été transféré en réanimation au CH Cayenne avec un tableau d'insuffisance hépatocellulaire. S'il avait bénéficié d'une vaccination Fièvre jaune à l'âge d'un an, il n'avait pas reçu de rappel comme prévu par le programme de vaccination car il n'était pas correctement scolarisé du fait d'un retard psychomoteur. (signalement le 17/07/2020).

Un second cas a été détecté en octobre 2020 chez un orpailleur illégal déposé au CDPS de Maripasoula par des collègues et transféré en réanimation au CH de Cayenne où il est rapidement décédé. (signalement le 13/10/2020).

➤ **Détection inhabituelle d'une circulation du virus Mayaro sur l'île de Cayenne (juin à sept 2020)** (signalement le 21/09/2020)

Début septembre 2020, dans un contexte d'activité de surveillance sérologique des arbovirus très faible du fait de l'épidémie de Covid, le CNR-LA-IPG avait détecté la présence d'IgM Mayaro chez 3 patients présentant des arthralgies marquées au décours d'un syndrome Dengue-like non étiqueté. Le diagnostic d'infection par le virus Mayaro avait pu être confirmé par PCR pour les 2 patients pour lesquels un prélèvement précoce (<J5) avait pu être retrouvé.

Une analyse rétrospective, puis prospective a alors été réalisée, à la recherche d'infection par le virus Mayaro, parmi les plvts reçus au CNR pour un syndrome dengue-like évoluant depuis moins de 5j et négatifs en PCR Dengue.

Sur un total de 79 prélèvements prélevés entre mi juillet et mi septembre 2020, pour un tableau Dengue like entre J0 et J5), 13 prélèvements se sont révélés positifs en PCR MAYARO. Un cas supplémentaire a encore été détecté en octobre. Les prélèvements positifs correspondaient à des patients âgés de 11 à 68 ans, avec un sex ratio H/F de 1,33 et résidant majoritairement sur l'île de Cayenne.

Cette fréquence, mais aussi l'âge et le sexe ratio des patients, ou encore leur lieu d'habitation étant plutôt inhabituels pour un virus considéré en Guyane comme endémique et selvatique, pouvaient laisser craindre une modification de circulation de ce virus ce qui a conduit le CNR à faire un signalement d'évènement inhabituel.

➤ **Détection d'une épidémie liée au virus Oropouche à Saül en août 2020** (signalement le 22/09/2020):

Une épidémie de syndrome dengue-like a démarré mi août 2020 à Saül, petite communauté isolée du centre de la Guyane (environ 80 habitants pendant la période de confinement). Devant l'importance du taux d'attaque et la négativité des tests de diagnostic de la dengue comme des autres arbovirus habituellement recherchés, le CNR a été sollicité et a mis en évidence par PCR en temps réel la présence du virus Oropouche dans le serum de 11 patients sur les 15 pour lesquels des prélèvements précoces avaient été reçus. Il s'agit ici de la première détection de ce virus en Guyane

Sur les 41 patients recensés au CDPS de Saül (Centre Délocalisé de Prévention et de Soins), ayant présenté un tableau clinique évocateur, nous avons reçu, pour 28 d'entre eux, au moins un prélèvement, soit au moment de la circulation du virus (août - septembre) soit un peu plus de 3 mois après (décembre).

Au total, pour ces 28 patients, le diagnostic d'infection par le virus Oropouche a pu être confirmé pour 23 d'entre eux : soit par PCR positive seule pour 7 d'entre eux (absence de prélèvement tardif permettant de vérifier la séroconversion), soit par seroneutralisation seule pour 12 d'entre eux (pas de prélèvement précoce permettant une détection de virus) ou encore par PCR et seroneutralisation positives pour 4 d'entre eux. Pour les 5 derniers patients, négatifs en PCR, nous n'avons pas pu tester l'apparition d'anticorps neutralisants en l'absence de prélèvement tardif.

Les résultats des investigations multidisciplinaires, cliniques, virologiques et entomologiques, menées sur cette épidémie feront l'objet d'une publication.

4.3 CNR-LA-LR

- Emergence de maculopathies :

Depuis 2019, 18 cas d'atteintes maculaires ont été observées chez des patients atteints de dengue. En 2020, le nombre de cas Une cohorte est actuellement suivie par les infectiologues, les ophtalmologistes, les internistes en lien avec SPF. Le séquençage de ces prélèvements positifs en comparaison avec les sérotypes circulants est en cours.

- Surveillance des formes graves et des décès qui semblent en recrudescence depuis 2020
- Surveillance des dengues nosocomiales transmises par le greffon rénal :

Nous avons suivi 6 greffés rénaux issus de 3 donneurs qui ont développé une dengue. Ces cas de transmission de dengue ont contribué à modifier le bilan du donneur en ajoutant la RTPCR dans les urines qui reste positive plus longtemps que la RTPCR plasmatique afin d'écarter les infections récentes.

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

Le CNR est toujours à la disposition des professionnels de santé pour répondre à tous leurs questionnements. Les conseils sont réalisés par téléphone ou courriel, par le responsable du CNR ou ses adjoints.

Face à des situations cliniques particulières ou complexes, le CNR met en contact ses interlocuteurs avec des infectiologues : Dr Fabrice Simon, ancien Chef du service d'infectiologie tropicale de l'Hôpital d'Instruction des Armées de Laveran (Marseille) ou le Dr Denis Malvy, infectiologue et responsable de l'unité des maladies tropicales et du voyageur au CHU de Bordeaux.

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.

Accueil de stagiaires : 2 stagiaires de M2 ont été accueillis en 2020.

5.1.2 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.

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 sous enregistrées du fait de la surcharge de travail liée à l'émergence du SARS-CoV2 en 2020, ces activités restent au minimum hebdomadaires (le nombre de prestations de conseils recensées en 2019-2020 s'élève à 138).

L'Institut Pasteur de la Guyane dispose d'un site web faisant l'objet de mises à jour régulières sur lequel est présenté 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 (automatiquement redirigée sur les boîtes mail des responsables) est également disponible.

➤ *Accueil de stagiaires :*

- ✓ Novembre 2018 à mai 2019 : accueil d'un interne en pharmacie de l'université de Bordeaux spécialité biologie médicale (Fourgeaud Jacques).
- ✓ Novembre 2019 à mai 2020 : accueil d'une interne en médecine de l'université de Bordeaux spécialité biologie médicale (Sarrah Ben Achour).

5.1.3 CNR-LA-LR

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.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

5.2.1 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.

5.2.2 CNR-LA-IPG

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

Avec la reprise de la circulation des virus de la dengue dans les TFA, le CNR-LA-IPG a notamment été sollicité en 2019 pour la définition et la mise en place de protocole de surveillance renforcée de la dengue en Martinique puis en Guadeloupe.

- D. Rousset :
 - Membre du Comité d'Expert des Maladies à Caractère Epidémique (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
 - Participation au groupe de travail HAS sur la « Place du vaccin Dengvaxia® dans la stratégie de lutte contre la dengue dans les départements français d'Outre-mer, Mayotte et les territoires français d'Amérique ». 2019.

5.2.3 CNR-LA-LR

CNR Associé Réunion 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.

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

5.3.1 CNR Arbovirus-IRBA

Rien à signaler

5.3.2 CNR-LA-IPG

D. Rousset : épidémie Oropouche à Saul

- *Interview Guyane 1^{ère} – journal TV- 19h30 le 01/10/2020*
- *Interview Radio Peyi – journal 7h le 02/10/2020*
- *Interview journal ANFORM (Kajou Communication) le 03/10/2020*

5.3.3 CNR-LA-LR

Rien à signaler

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

6.1 Activités de recherche pour les années 2019-2020

6.1.1 CNR Arbovirus-IRBA

➤ **Etude de séroprévalence suite à l'émergence du virus Zika à Hyeres**

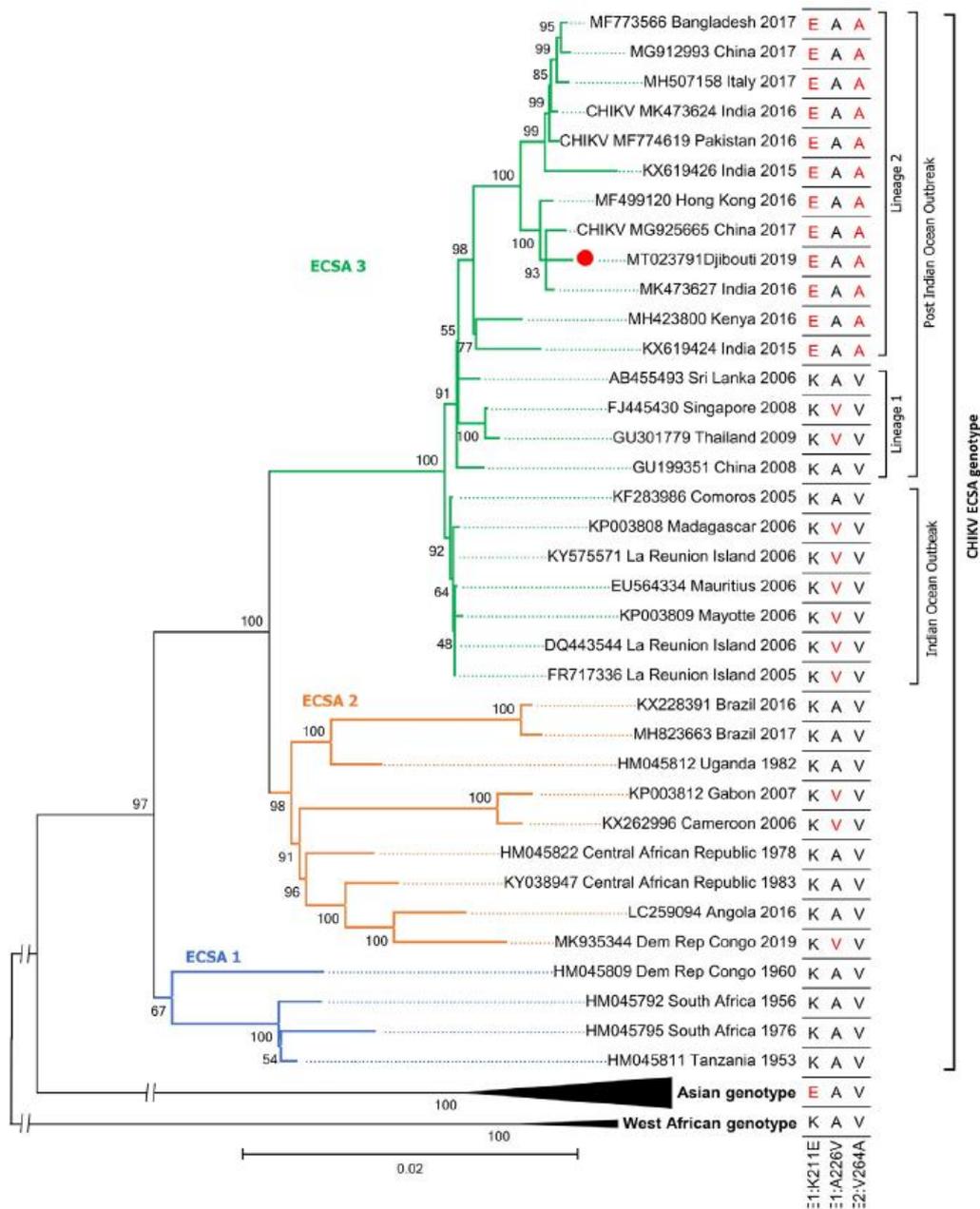
La première transmission vectorielle en Europe de ZIKV a été identifiée à Hyères, en France. Il s'agissait de 3 cas, malades début août 2019, habitant un même quartier. Une enquête de séroprévalence à laquelle le CNR a participé a été menée afin de déterminer l'étendue de la transmission autochtone, et la part des infections asymptomatiques et paucisymptomatiques. L'enquête a pu être menée auprès de 61% des foyers de la zone étudiée (89/146) et 86% des personnes enquêtés éligibles ont été prélevés (165/192). Ce pourcentage est de 82% pour les travailleurs (69/84).

Huit personnes présentaient des IgG anti-flavivirus. Les 5 séroneutralisations faites n'ont montré aucun antécédent de Zika. Les 3 autres personnes avaient déjà habité dans des zones à risque de transmission. Le foyer d'infection à ZIKV est resté limité. Les cas identifiés étaient symptomatiques. Cette étude permet d'appréhender le potentiel de diffusion du ZIKV sur le continent européen et de guider les mesures de contrôle à mettre en place en cas d'émergence. Voir références 1 et 16.

➤ **Développement d'un test rapide (bandelette réactive) basée sur des pseudoparticules pour le diagnostic IgM Chikungunya.** Voir références 3 et 9.

➤ **Epidémie à virus Chikungunya Djibouti 2019**

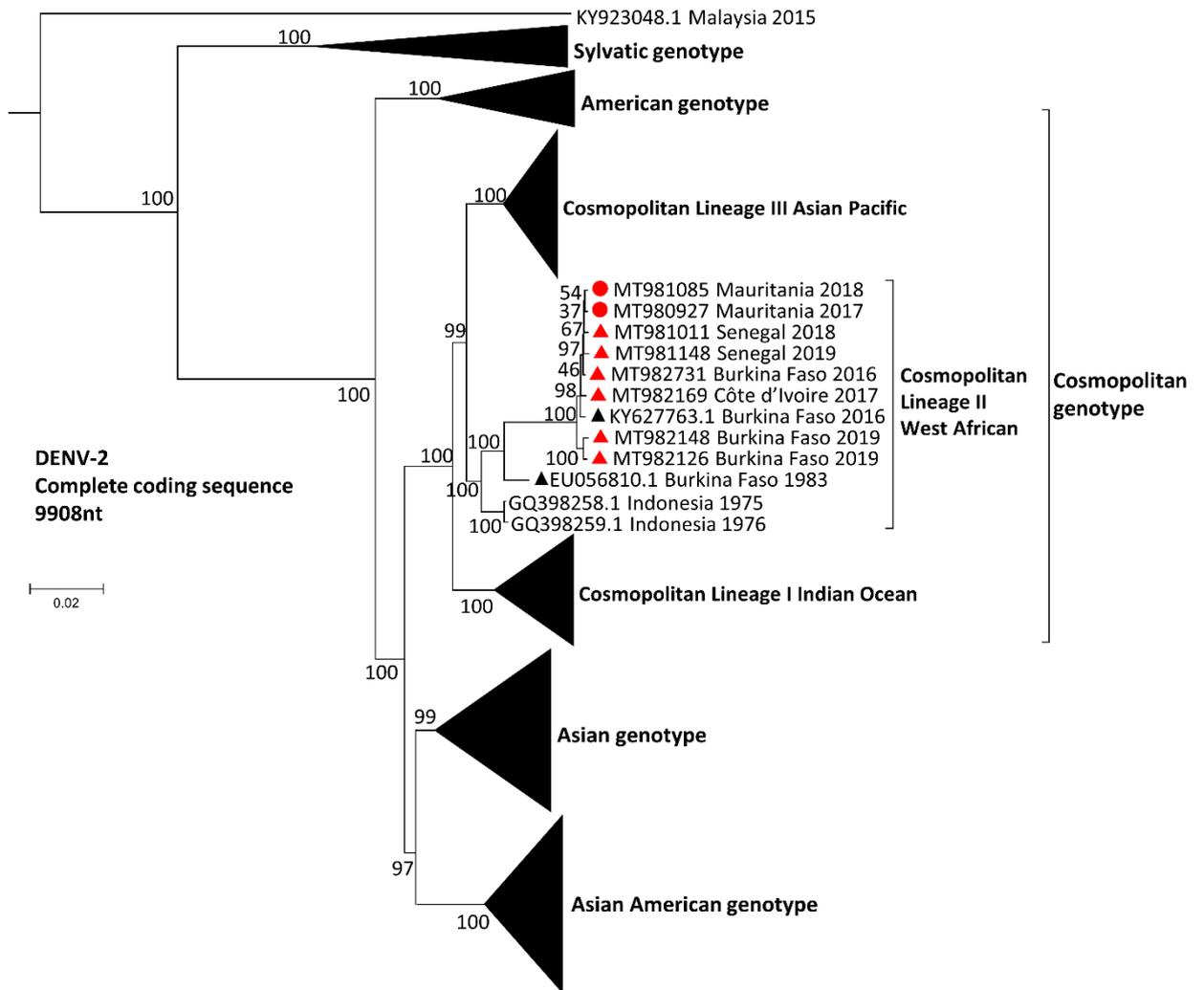
Le séquençage de la souche de CHIKV et l'analyse phylogénique a montré qu'il s'agissait d'une souche ECSA provenant d'Inde et présentant la mutation AEA (meilleure adaptation au vecteur *Aedes aegypti*)



Analyse phylogénétique de la souche de CHIKV circulant en 2019 à Djibouti (Fourié T. *et al.*, Emergence of Indian lineage of ECSA chikungunya virus in Djibouti, 2019. *Int J Infect Dis.* 2021)

➤ **Séquençage et analyse phylogénétiques des souches de dengue circulant en Afrique et à La Réunion**

- Fourié T, Luciani L, Amrane S, Zandotti C, Leparc-Goffart I, Ninove L, Nougairède A. Dengue Virus Type 1 Infection in Traveler Returning from Benin to France, 2019. *Emerg Infect Dis.* 2020 Aug;26(8):1946-1949. doi: 10.3201/eid2608.200055. PMID: 32687042; PMCID: PMC7392436.
- Toscane Fourié, Ahmed El Bara, Audrey Dubot-Pérès, Gilda Grard, Sébastien Briolant, Leonardo K. Basco, Mohamed Ouldabdallahi Moukah, Isabelle Leparc-Goffart. Emergence of dengue virus serotype 2 in Mauritania and molecular characterization of its circulation in West Africa. Publication acceptée dans *Plos Neglected Tropical Diseases*.



Analyse phylogénétique des souches de Dengue 2 circulant en Afrique de l'Ouest.

- Séquençage et analyse phylogénétique des souches de dengue circulant à La Réunion : travaux en cours.

6.1.2 CNR-LA-IPG :

Les années 2019 et 2020 ont permis la poursuite et la valorisation de projets menés au CNR-LA-IPG :

- 1) sur le développement et la validation d'outils de diagnostic des arbovirus

*ACIP Arbo Virtuess : développement d'outils moléculaires multiplex (xMAP, Luminex) et validation de leur utilisation sur des prélèvements non-invasifs d'urine et de salive) (ref 8 Broeders S et al, IJID)

* Evaluation de performances de kits commerciaux pour le diagnostic sérologique d'infection récente par le virus Zika, et étude de la cinétique des anticorps sur 9 mois. (ref 10 : Matheus S et al, EID)

- 2) sur l'analyse de la séroprévalence des arboviroses en Guyane :

*FEDER EPI-Arbo : Séro-épidémiologie des arboviroses prioritaires en Guyane (voir rapports précédents)

Finalisation et publication des analyses de séroprévalence du virus Zika et des virus Chikungunya et Mayaro :

La séroprévalence globale du Zika a été estimée à 23.3% [20.9%-25.9%] de la population avec de larges variations (0% à 45.6%) selon les communes (ref 9 Flamand et al JID). Les séroprévalences du Chikungunya et du Mayaro sont quant à elles estimées respectivement à 20% [19%-22%] et 3.2% [2.6%-3.8%] avec là encore une large hétérogénéité géographique cohérente avec la répartition de leurs vecteurs respectifs (ref 5 Hoze et al, Nature Communications).

Poursuite également des autres analyses de séroprévalence (notamment séroprévalence de la Fièvre jaune – et séroprévalence de la Dengue) : malheureusement la surcharge de travail du laboratoire liée à la crise Covid n'a pas encore permis la finalisation ni la valorisation de ces analyses.

- 3) sur l'étude des fièvres aiguës d'origine infectieuse en Guyane

*FEDER EFAG : Etiologie des Fièvres Aiguës 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 2017)

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

A ce jour les inclusions sont terminées : au total 243 patients ont été inclus dans 2FAG et 79 dans EFAG. Les analyses sont en cours mais ont été impactées par le COVID.

6.1.3 CNR-LA-LR

Le CNR de la Réunion participe à l'étude DEMARE « Etude observationnelle des infections humaines du virus de la Dengue sur deux îles de l'Océan Indien : Madagascar et la Réunion. » 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 Fonds National Suisse pour la Recherche (N° 179532). Du 25/10/19 au 12/03/20, 8 clusters ont été inclus avec 277 sujets testés. En raison de l'épidémie de SARS Cov 19, l'étude a été arrêtée à la mi-mars et a repris début juin. L'étude est en cours d'analyse finale.

Caractérisation et suivi clinico-biologique des formes graves de dengue (maculopathies, formes réanimatoires) avec les infectiologues, les ophtalmologistes, les internistes et les UMR DETROIT et PIMIT.

6.2 Publications et communications

6.2.1 CNR Arbovirus-IRBA

Publications internationales :

Publications 2019

1. Giron S, Franke F, Decoppet A, Cadiou B, Travaglini T, Thirion L, **Durand G**, Jeannin C, L'Ambert G, **Grard G**, Noël H, Fournet N, Auzet-Caillaud M, Zandotti C, Aboukaïs S, Chaud P, Guedj S, Hamouda L, Naudot X, Ovize A, Lazarus C, de Valk H, Paty MC, **Leparc-Goffart I**. Vector-borne transmission of Zika virus in Europe, southern France, August 2019. Euro Surveill. 2019 Nov;24(45).

2. Eldin C, Ninove L, Drouet H, Gautret P, **Leparc-Goffart I**, Parola P. Dengue fever type 1 in five travellers returning from the Comoros Islands to Marseille in August 2019 - The risk of importation and subsequent autochthonous dengue transmission in France. *Travel Med Infect Dis.* 2019 Nov 1:101507
3. Denis J, Attoumani S, **Gravier P**, **Tenebray B**, Garnier A, Briolant S, de Laval F, Chastres V, **Grard G**, **Leparc-Goffart I**, Coutard B, Badaut C. High specificity and sensitivity of Zika EDIII-based ELISA diagnosis highlighted by a large human reference panel. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019 Sep 20;13(9):e0007747
4. Botelho-Nevers E, Gagneux-Brunon A, Velay A, **Guerbois-Galla M**, **Grard G**, Bretagne C, Mailles A, Verhoeven PO, Pozzetto B, Gonzalo S, Fafi-Kremer S, **Leparc-Goffart I**, Pillet S. Tick-Borne Encephalitis in Auvergne-Rhône-Alpes Region, France, 2017-2018. *Emerg Infect Dis.* 2019 Oct;25(10):1944-1948.
5. Stegmann-Planchard S, Gallian P, Tressières B, **Leparc-Goffart I**, Lannuzel A, Signaté A, Laouénan C, Cabié A, Hoen B. Chikungunya, a risk factor for Guillain-Barré syndrome. *Clin Infect Dis.* 2019 Jul 9. pii: ciz625.
6. 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).
7. 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).
8. 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.
9. Theillet G, **Grard G**, **Galla M**, Maisse C, Enguehard M, Cresson M, Dalbon P, **Leparc-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.
10. 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.
11. 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
12. 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.* 2019 Jan;21(1):81-88.

Publications 2020

- 13: Beck C, **Leparc Goffart I**, Franke F, Gonzalez G, Dumarest M, Lowenski S, Blanchard Y, Lucas P, Lamballerie X, **Grard G**, **Durand GA**, Zientara S, Tapprest J, L'Ambert G, Durand B, Desvaux S, Lecollinet S. Contrasted Epidemiological Patterns of West Nile Virus Lineages 1 and 2 Infections in France from 2015 to 2019. *Pathogens.* 2020 Oct 30;9(11):908. doi: 10.3390/pathogens9110908. PMID: 33143300; PMCID: PMC7692118.
- 14: Valentine MJ, Ciriola B, Aliota MT, Vandenplas M, Marchi S, **Tenebray B**, **Leparc-Goffart I**, Gallagher CA, Beierschmitt A, Corey T, Dore KM, de Lamballerie X, Wang C, Murdock CC, Kelly PJ. No evidence for sylvatic cycles of chikungunya, dengue and Zika viruses in African green monkeys (*Chlorocebus aethiops*

sabaeus) on St. Kitts, West Indies. *Parasit Vectors*. 2020 Oct 30;13(1):540. doi: 10.1186/s13071-020-04419-1. PMID: 33126907; PMCID: PMC7598228.

15: Fourié T, Luciani L, Amrane S, Zandotti C, **Leparc-Goffart I**, Ninove L, Nougairède A. Dengue Virus Type 1 Infection in Traveler Returning from Benin to France, 2019. *Emerg Infect Dis*. 2020 Aug;26(8):1946-1949. doi: 10.3201/eid2608.200055. PMID: 32687042; PMCID: PMC7392436.

16: **Durand GA**, Piorkowski G, Thirion L, Ninove L, Giron S, Zandotti C, Denis J, Badaut C, Failloux AB, **Grard G**, **Leparc-Goffart I**, de Lamballerie X. Vector-Borne Transmission of the Zika Virus Asian Genotype in Europe. *Viruses*. 2020 Mar 9;12(3):296. doi: 10.3390/v12030296. PMID: 32182748; PMCID: PMC7150815.

17: Huits R, De Smet B, **Grard G**, Eggermont K, Minto-Bain C, Jess N, **Leparc-Goffart I**, Malvy D, Cnops L. Detection of Zika Virus Replication in Human Semen by Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Targeting of Antisense Ribonucleic Acid. *J Infect Dis*. 2020 Jun 29;222(2):319-323. doi: 10.1093/infdis/jiaa070. PMID: 32052024.

18: Volkov L, **Grard G**, Bollaert PE, **Durand GA**, Cravoisy A, Conrad M, Nace L, Courte G, Marnai R, **Leparc-Goffart I**, Gibot S. Viscerotropic disease and acute uveitis following yellow fever vaccination: a case report. *BMC Infect Dis*. 2020 Feb 10;20(1):116. doi: 10.1186/s12879-020-4838-x. PMID: 32041533; PMCID: PMC7011288.

19: Javelle E, Lesueur A, Pommier de Santi V, de Laval F, Lefebvre T, Holweck G, **Durand GA**, **Leparc-Goffart I**, Texier G, Simon F. The challenging management of Rift Valley Fever in humans: literature review of the clinical disease and algorithm proposal. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2020 Jan 22;19(1):4. doi: 10.1186/s12941-020-0346-5. PMID: 31969141; PMCID: PMC6977312.

20: Eldin C, Ninove L, Drouet H, Gautret P, **Leparc-Goffart I**, Parola P. Dengue fever type 1 in five travellers returning from the Comoros Islands to Marseille in August 2019 - The risk of importation and subsequent autochthonous dengue transmission in France. *Travel Med Infect Dis*. 2020 Jan-Feb;33:101507. doi: 10.1016/j.tmaid.2019.101507. Epub 2019 Nov 1. PMID: 31683025.

21: Stegmann-Planchard S, Gallian P, Tressières B, **Leparc-Goffart I**, Lannuzel A, Signaté A, Laouénan C, Cabié A, Hoen B. Chikungunya, a Risk Factor for Guillain- Barré Syndrome. *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 3;70(6):1233-1235. doi: 10.1093/cid/ciz625. PMID: 31290540.

Communication :

I. Leparc-Goffart, Arboviroses : quand tout était dengue. 40^e Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse (RICAI), 2020.

6.2.2 CNR-LA-IPG

Publications internationales :

1. De Thoisy B, Duron O, Epelboin L, Musset L, Quénel P, Roche B, Binetruy F, Briolant S, Carvalho L, Chavy A, Coupié P, Demar M, Douine M, Dusfour I, Epelboin Y, Flamand C, Franc A, Ginouvès M, Gourbière S, Houël E, Kocher A, **Lavergne A**, Le Turnier P, Mathieu L, Murienne J, Nacher M, Pelleau S, Prévot G, **Rousset D**, Roux E, Schaub R, Talaga S, Thill P, Tirera S, Guégan JF. Ecology, evolution, and epidemiology of zoonotic and vector-borne infectious diseases in French Guiana: Transdisciplinarity does matter to tackle new emerging threats *Infect Genet Evol*. 2021 May 15:104916. doi: 10.1016/j.meegid.2021.104916.

2. Pomar L, Lambert V, **Matheus S**, Pomar C, Hcini N, Carles G, **Rousset D**, Vouga M, Panchaud A, Baud D. Prolonged maternal Zika viremia as a marker of adverse perinatal outcomes. EID, 2021 Feb 27(2). doi.org/10.3201/eid2702.200684.
3. Troumani Y1, Touhami S, Stanescu D, Ventura CV, Jackson TL, Errera MH, Bodaghi B, **Rousset D**, Cartry G, David T and Beral L. Association of anterior uveitis with acute Zika virus infection in adults. JAMA Ophthalmol. 2021 Jan 1;139(1):95-102. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2020.5131.
4. Nacher M, Douine M, Gaillet M, Flamand C, **Rousset D**, Rousseau C, Mahdaoui C, Carroll S, Valdes A, Passard N, Carles G, Djossou F, Demar M, Epelboin L. Simultaneous Dengue and COVID-19 epidemics: difficult days ahead? PLoS Negl Trop Dis. 2020 Aug 14;14(8):e0008426. doi: 10.1371/journal.pntd.0008426
5. Hozé N, Salje H, **Rousset D**, Fritzell C, Vanhomwegen J, Bailly S, Najm M, **Enfissi A**, Manuguerra JC, Flamand C, Cauchemez S. Reconstructing Mayaro virus circulation in French Guiana shows frequent spillovers. Nat Commun. 2020 Jun 5;11(1):2842. doi: 10.1038/s41467-020-16516-x.
6. Hallet E, Flamand C, **Rousset D**, Bonnifay T, Fritzell C, **Matheus S**, Dueymes M, Ntab B, Nacher M. ZIKA Virus infection in pregnant women in French Guiana: more precarious-more at risk. PLoS Negl Trop Dis. 2020 Mar 24;14(3):e0008193. doi: 10.1371/journal.pntd.0008193.
7. Mutricy R, Djossou Felix, **Matheus S**, Lorenzi-Martinez E, De Laval F, Demar M, Nacher M, **Rousset D**, Epelboin L. Discriminating Tonate virus from Dengue virus infection: A matched case control study in French Guiana 2003-2016. Am J Trop Med Hyg. 2020 Jan;102(1):195-201. doi: 10.4269/ajtmh.19-0156.
8. Broeders S, Garlant L, Fraiture MA, Vandermassen E, Suin V, Vanhomwegen J, Dupont-Rouzeyrol M, **Rousset D**, Van Gucht S, Roosens N. A new multiplex RT-qPCR method for the simultaneous detection and discrimination of Zika and chikungunya viruses. Int J Infect Dis. 2020 Mar;92:160-170. doi: 10.1016/j.ijid.2019.12.028. Epub 2019 Dec 26.
9. Flamand C, Bailly S, Fritzell C, Berthelot L, Vanhomwegen J, Salje H, Paireau J, **Matheus S**, **Enfissi A**, Fernandes-Pellerin S, Djossou F, Linares S, Carod JF, Kazanji M, Manuguerra JC, Cauchemez S, **Rousset D**. Impact of Zika virus emergence in French Guiana: A large general population seroprevalence survey. J Infect Dis. 2019 Nov 6;220(12):1915-1925. doi: 10.1093/infdis/jiz396.
10. **Matheus S**, Talla C, **Labeau B**, de Laval F, Briolant S, **Berthelot L**, Vray M, **Rousset D**. Performance of 2 Commercial Serologic Tests for Diagnosing Zika Virus Infection. Emerg Infect Dis. 2019 Jun;25(6):1153-1160. doi: 10.3201/eid2506.180361.

Communication : Affichée, Poster virtuel

- V. Lambert, L. Pomar, A.Enfissi, N.Hcini, S. Kedous, F. Guimiot, M. Lefebvre, G.Carles, D.Rousset. Congenital Tonate infection and associated ultrasoundfindings. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology 2020; 56 (Suppl. 1): 57–378.

Conférence sur invitation :

D. Rousset : Mayaro and Oropouche outbreak in French Guiana. Annual Meeting of the Arbovirus Diagnosis Laboratory Network – RELDA -Virtual Meeting 23-25 November 2020

6.2.3 CNR-LA-LR

1 –Methotrexate an Old Drug with New Tricks.

Bedoui Y, Guillot X, Sélambarom J, Guiraud P, Giry C, **Jaffar-Bandjee MC**, Ralandison S, Gasque P. Int J Mol Sci. 2019 Oct 10;20(20):5023. doi: 10.3390/ijms20205023. PMID: 31658782 Free PMC article. Review.

2 -From the threat to the large outbreak: dengue on Reunion Island, 2015 to 2018.

Vincent M, Larrieu S, Vilain P, Etienne A, Solet JL, François C, Roquebert B, **Jaffar Bandjee MC**, Filleul L, Menudier L. Euro Surveill. 2019 Nov;24(47):1900346. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.47.1900346. PMID: 31771702

3 -Rift Valley Fever Outbreak, Mayotte, France, 2018-2019.

Youssef H, Subiros M, Denetiere G, Collet L, Dommergues L, Pauvert A, Rabarison P, Vauloup-Fellous C, Le Godais G, **Jaffar-Bandjee MC**, Jean M, Paty MC, Noel H, Oliver S, Filleul L, Larsen C. Emerg Infect Dis. 2020 Apr;26(4):769-772. doi: 10.3201/eid2604.191147. PMID: 32186500

4 -Robust COX-2-mediated prostaglandin response may drive arthralgia and bone destruction in patients with chronic inflammation post-chikungunya.

Bedoui Y, Septembre-Malaterre A, Giry C, **Jaffar-Bandjee MC**, Selambarom J, Guiraud P, Gasque P. PLoS Negl Trop Dis. 2021 Feb 17;15(2):e0009115. doi: 10.1371/journal.pntd.0009115. eCollection 2021 Feb. PMID: 33596205

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

7.1 CNR Arbovirus IRBA

Le CNR Arbovirus-IRBA travaille en coopération avec l'ANSES (Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort et LNR West-Nile) sur la circulation des virus West-Nile, Usutu et TBE.

7.2 CNR-LA-IPG

Non applicable

7.3 CNR-LA-LR

8 Programme d'activité pour les années suivantes

8.1 CNR Arbovirus-IRBA

Activité d'expertise

- Evolution technologique de l'activité de biologie moléculaire : validation des méthodes d'extractions de l'ARN automatisées (automate QiaSymphony) et de l'amplification de l'ARN en plaque (automate CFX).
- Amélioration des tests de séroneutralisation : standardisation des méthodes, utilisation de contrôles positifs qualifiés
- Développement de tests de détection pour les orthobunyavirus

Activité de surveillance

Etude de séroprévalence des arbovirus à Mayotte (~3000 prélèvements): Chikungunya, dengue, West-Nile et Fièvre de la Vallée du Rift

8.2 CNR-LA-IPG

Activité d'expertise

- Acquisition de nouvelles techniques et nouveaux réactifs

La détection d'un nouvel arbovirus, le virus Oropouche, en Guyane en 2020, a montré l'importance de poursuivre l'élargissement de nos outils de détections des arbovirus. Une de nos priorités sera d'élargir les capacités de diagnostic sérologique aux Orthobunyavirus.

- Caractérisation moléculaire de souches

L'acquisition d'un MinION par le laboratoire de virologie de l'IPG, pour l'instant largement utilisé pour le séquençage du virus SARS-CoV-2, devrait augmenter les capacités de séquençage du CNR-LA-IPG afin d'améliorer la caractérisation phylogénétique des souches circulantes et la surveillance de leur évolution. Dans ce but, le laboratoire poursuivra sa mise au point de systèmes d'amplification conventionnelle permettant d'obtenir l'amplification des génomes (partiels ou complets) afin de les séquencer.

Activité de surveillance

Devant les difficultés observées par le CNR-LA-IPG, pour la surveillance des arbovirus autres que les virus prioritaires du système de surveillance de Santé Publique France que sont les virus Dengue, Chikungunya et Zika, la mise en place d'une surveillance sentinelle des arbovirus en Guyane est envisagée en collaboration avec l'ARS Guyane.

Rationnel : si dans les premières années qui ont suivi l'épidémie de Zika, une majorité de détections ont été réalisées sur des prélèvements de femmes enceintes initialement adressés par le CH de Saint Laurent du Maroni pour une surveillance du Zika, en 2020, une grande partie des détections (hors Dengue) a été réalisée sur les prélèvements adressés par les laboratoires Eurofins de l'île de Cayenne, qui du fait de la pandémie Covid ont envoyé leurs demandes de PCR Dengue au CNR-LA-IPG.

On ne peut donc que faire le constat qu'en l'absence de système de surveillance dédié, la détection des arbovirus circulants est très dépendante des prélèvements reçus par le CNR-LA-IPG (dont les indications, l'origine et le nombre sont très fluctuants) et qu'elle s'avère donc inadaptée à un suivi régulier, reproductible et étendu à l'ensemble du territoire guyanais, de la circulation des arbovirus.

Activité de recherche

Poursuite des projets de recherche en cours :

- FEDER Epi-Arbo : finalisation des séroneutralisations Fièvre jaune, Dengue 1 à 4 et analyse des résultats.
- FEDER EFAG : poursuite et finalisation des analyses (NGS).

8.3 CNR-LA-LR

Activité d'expertise :

Développer la technique de séroneutralisation, nécessaire dans les cas d'infection secondaire, afin d'identifier le sérotype responsable de l'infection primaire.

Le développement du séquençage de la dengue sur la plateforme NGS GridION d'Oxford Nanopore permettra de décrire la provenance ainsi que la circulation des 3 sérotypes DENV1, DENV2 et DENV3 sur l'île de la Réunion à partir de notre biothèque depuis 2012 et dans la région OI via la collaboration SEGA.

Le séquençage des formes de dengue graves et maculaires pourra nous confirmer s'il existe des modifications de la séquence génomique du virus par rapport aux souches circulantes. Des études sur des modèles cellulaires comparant les souches avec et sans mutation pourraient nous apporter des éléments en lien avec la virulence.

Activité de surveillance :

Une étude de séroprévalence était prévue en 2019 qui n'a pu être réalisée en raison de l'épidémie de SARS-Cov2.

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
Durand Guillaume, Méd, PhD	Adjoint	IRBA, SSA	0.7
Tenebray Bernard	Technicien	IRBA, SSA	0.8
Geulen Manon	Technicien	IRBA, SSA	0.6
Peden Manon	Technicien	IRBA, SSA	0.6
Bosio Laurent	Technicien	IRBA, SSA	0.8
Canivez Thomas	Technicien	CDD IRBA, SSA	0.8
Palomo Vincent*	Technicien	CDD IRBA, SSA	0.8
Debouzy Vick	Technicien	CDD IRBA, SSA	0.8
Picard Priscillia*	Secrétaire	CDD IRBA, SSA	0.8

*personnels ayant quitté le laboratoire après 2020 au moment de la rédaction du présent rapport

Tableau 1. Personnes affectées aux activités de CNR des Arbovirus, IRBA Marseille

1.2.2 CNR-LA-IPG

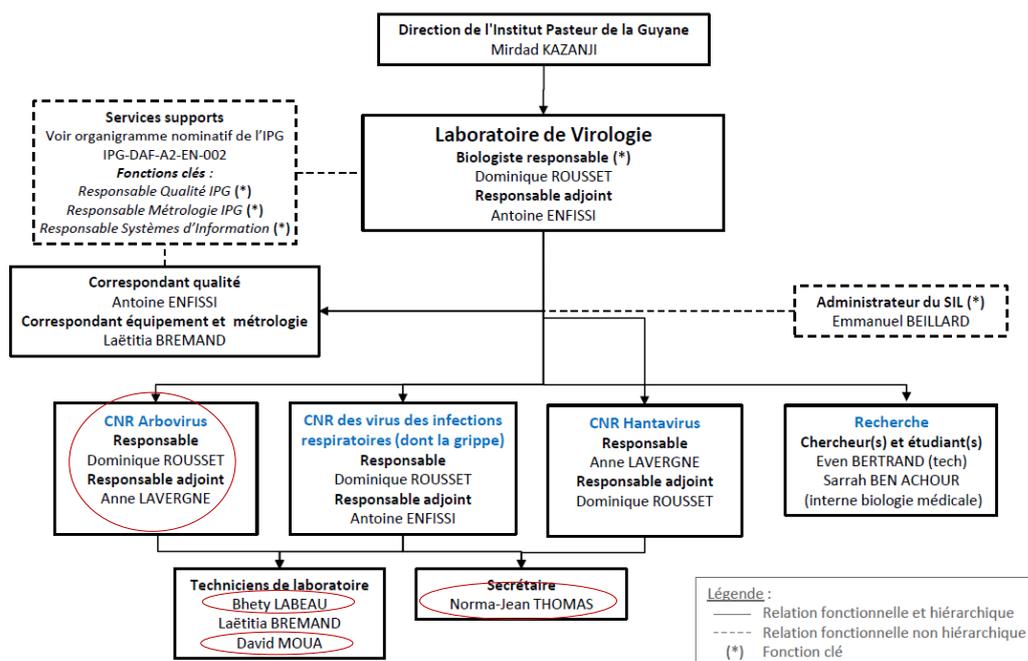


Figure 1 : Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane période 2019-2020 (en rouge : CNR arbovirus -LA-IPG)

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 cadre scientifique, 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	Bhety	Technicien supérieur	DELAM	IP, Guyane (CDI)	1
MOUA	David	Technicien supérieur	BTS	IP, Guyane (CDI)	1
THOMAS	Norma-Jean	Secrétaire	-	IP, Guyane (CDI)	0,75

Tableau 2 : Personnels affectés aux activités du CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane au 31/12/2020.

Remarque : en 2019, un Pharmacien Biologiste de l'IPG, Mr Emmanuel Beillard, a également apporté son appui au CNR des arbovirus pour la validation biologique des analyses 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 et équipements associés :

Le CNR Arbovirus - IRBA a déménagé dans les locaux de l'IHU en 2019. Il est réparti sur trois niveaux (Figures 2, 3, 4).

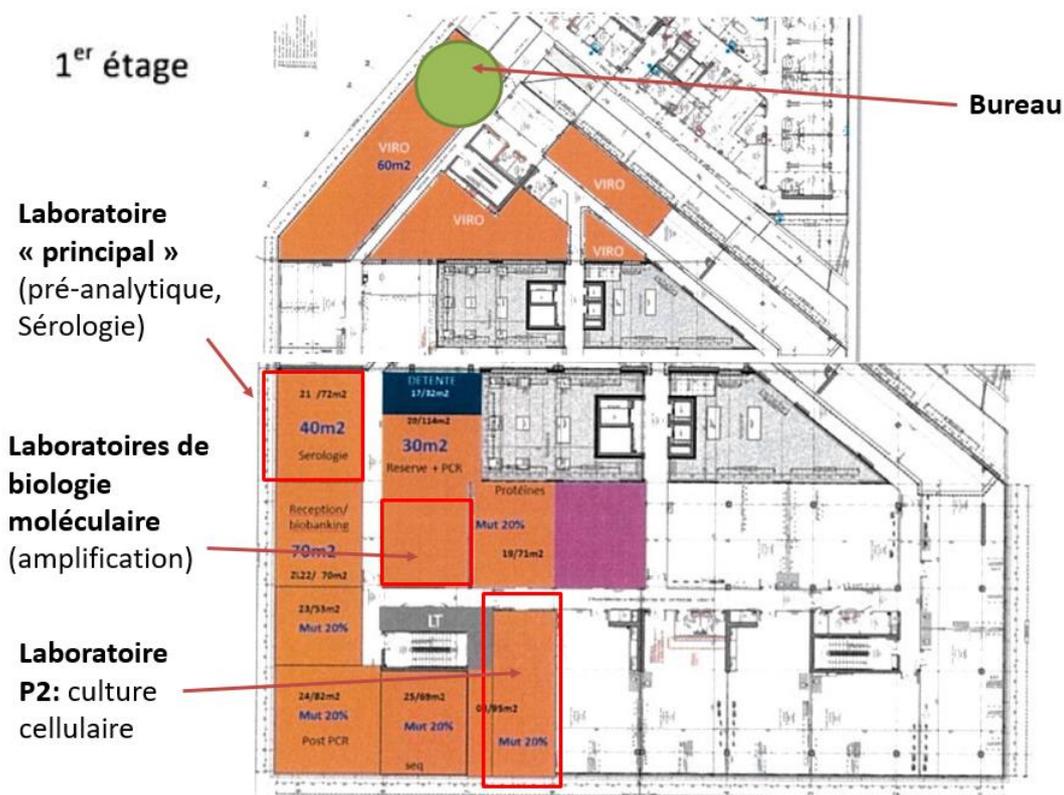


Figure 2. Plan des locaux du CNR-IRBA sur le site IHU (niveau 1)

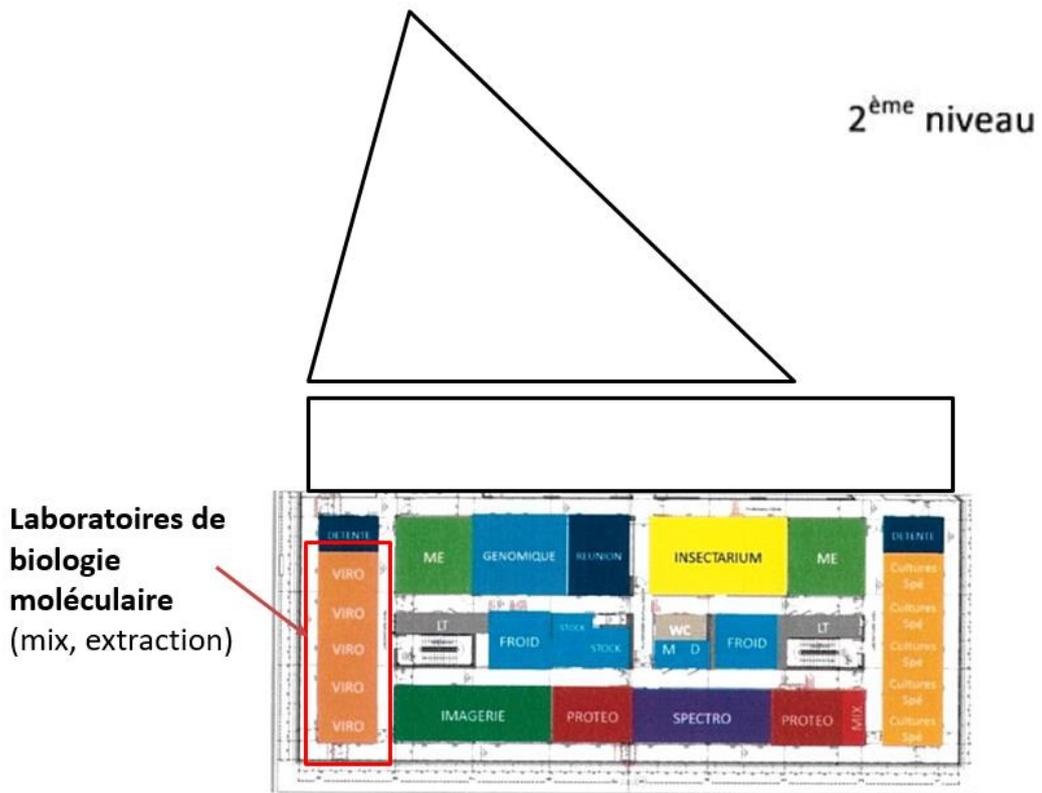


Figure 3. Plan des locaux du CNR-IRBA sur le site IHU (niveau 2)

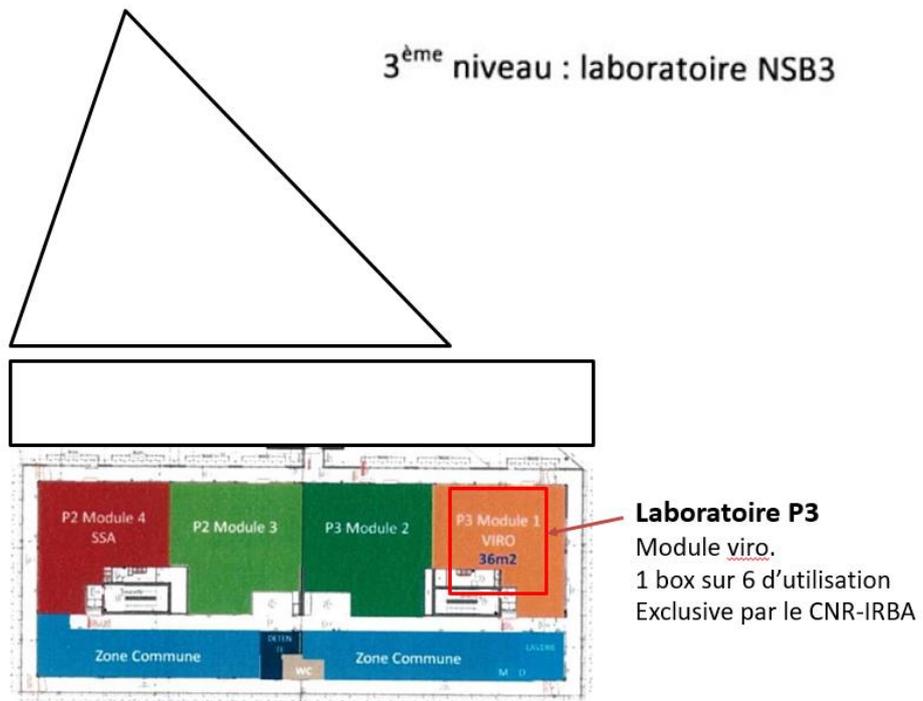


Figure 4. Plan des locaux du CNR-IRBA sur le site IHU (niveau 3)

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 m² répartie entre bureaux et laboratoires.



Figure 5 : Plan général du laboratoire de virologie (IPG) - v5 19.01.2021

- un laboratoire (pièce 248) où sont réalisés la réception et l'aliquotage des échantillons (35 m²). 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 NSB2 (pièces 247 et 246) dédié à l'entretien des cultures cellulaires, et à l'isolement des virus de classe 2 (25 m²). Ce laboratoire est équipé de deux PSM, d'une centrifugeuse réfrigérée, de 3 incubateurs (28°C, 37°C et 37°C atmosphère 5% CO₂) et d'un microscope inversé.
- un laboratoire dédié aux activités de biologie moléculaire de 20 m² 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 nouveau laboratoire LSB3 de 70 m² pour isolement et amplification virale des agents de classe 3, ainsi que pour les préparations d'antigènes. Ce laboratoire NSB3 construit grâce à un financement européen a été qualifié en août 2017. Il est équipé de deux PSM type II, d'une centrifugeuse réfrigérée, de 2 incubateurs (28°C, et 37°C atmosphère 5% CO₂), d'un microscope inversé, un congélateur -80°C, un ordinateur et un autoclave double-entrée.

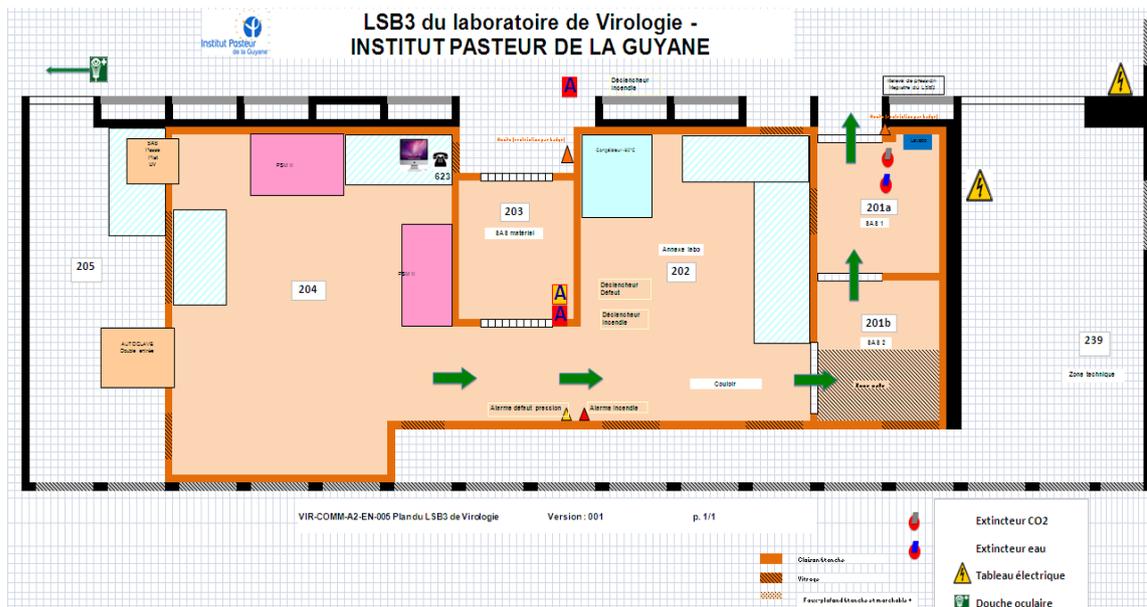


Figure 6.

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

Le laboratoire fait partie des laboratoires de niveau 2 du réseau Biotox-Piratox et dispose depuis juin 2005 d'un laboratoire L3 qui a été audité par l'afssaps en 2008. D'une superficie de 90m², ce laboratoire confiné comprend, outre la prézone et les sas personnel et matériel, 3 pièces techniques (virologie, mycobactérie, microscope informatique). L'activité Biologie Moléculaire, y compris celle des Arboviroses, est réalisée dans les pièces suivantes :

- une salle d'extraction 25 m²
- une salle blanche 6 m²
- 2 salles de PCR de 15 m² chacune
- 1 salle de post-PCR (commune avec l'activité recherche) 25 m²
- une salle de culture 10 m²
- une salle post-L3 8m²

L'activité de sérologie est réalisée dans la salle de séro-immunologie (25m²) qui dispose d'un automate Liaison et de laveurs automatiques et lecteurs de plaques.

Autres automates de biologie moléculaire dont le laboratoire dispose :

- extracteurs d'acides nucléiques : MagNa Compact, Easy Mag de Biomérieux
 - thermocycleurs : 2 Light-cycler 480, Smart-cycleur, Eppendorf Mastercycler, NucliSens EasyQ
- Enceintes froides : 2 congélateurs -80°C, 2 combi +4/-20°C.

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 : dans la limite de disponibilité, le CNR Arbovirus-IRBA distribue gratuitement les ressources biologiques nécessaires au développement où la validation de tests diagnostiques en particulier pour la détection des IgM et des IgG Chikungunya et Zika. Les destinataires sont des CHU où des tiers académiques.

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 biothèques 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.

- Conditions de mise à disposition de ces collections

Le CNR valorise son savoir-faire et son expertise en mettant à disposition de tiers académiques des aliquots de prélèvements ou souches de la collection (tout en s'assurant de la préservation de la collection).

L'accès au matériel biologique collecté dans le cadre de l'activité du CNR est conditionné :

- à ce que l'utilisation envisagée du matériel biologique réponde à un objectif de santé publique ;
- ou à la mise en place de documents contractuels spécifiques.

Ainsi, est exigée pour le transfert du matériel biologique et des données associées à des équipes extérieures, la mise en place a minima d'un accord de transfert de matériel biologique (MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties.

En termes de valorisation, l'Institut Pasteur s'assure que le CNR soit remercié ou associé dans chacune des publications et communications des résultats du projet. L'Institut Pasteur s'assure également dans certaines circonstances de la copropriété des résultats issus des

travaux effectués sur le matériel biologique. A tout le moins, les résultats du projet sont systématiquement communiqués au CNR.

1.4.3 CNR-LA-LR

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. Le laboratoire a obtenu l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 pour l'analyse diagnostic des virus de la Dengue et du Chikungunya en 2018 en portée B. L'accréditation a été renouvelée à chaque visite de surveillance. L'automatisation du processus d'extraction et d'amplification par RT-PCR fera l'objet d'un nouveau dossier de validation de méthode.

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-familles concernées : microbiologie générale MICROBIOBM/ portée B (sérologie Chikungunya) et virologie spécialisée VIROH/ portée B (PCR Dengue). A l'occasion de la visite de surveillance en septembre 2019, le laboratoire a obtenu le maintien de son accréditation.

L'ensemble des sous familles utilisées par le CNR-LA-IPG ayant été ouvertes en portée B, il nous reste maintenant à compléter les dossiers de validation pour l'ensemble des paramètres utilisés (en évolution régulière).

Contrôles qualité externes

En 2019 et 2020, le CNR-IRBA a participé aux EEQ Instandt pour la RT-PCR et la sérologie pour les virus DENV, CHIKV, WNV et ZIKV ainsi que la sérologie TBE. Les résultats obtenus sont conformes à 100%.

En 2019, le CNR LA-IPG a participé à un EEQ moléculaire pour la détection des arbovirus (DENV, ZIKV, WNV et CHIKV) organisé par le National Microbiology Laboratory Winnipeg, Canada : 2019 GHSAG proficiency panel. 100% de concordance des résultats.

Par ailleurs, le CNR-LA-IPG a organisé un CIL pour la sérologie Chikungunya (IgM et IgG) entre le CNR-LA-IPG et le laboratoire du Centre hospitalier de Kourou (CHK). 100% de concordance des résultats.

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 ci-dessous.

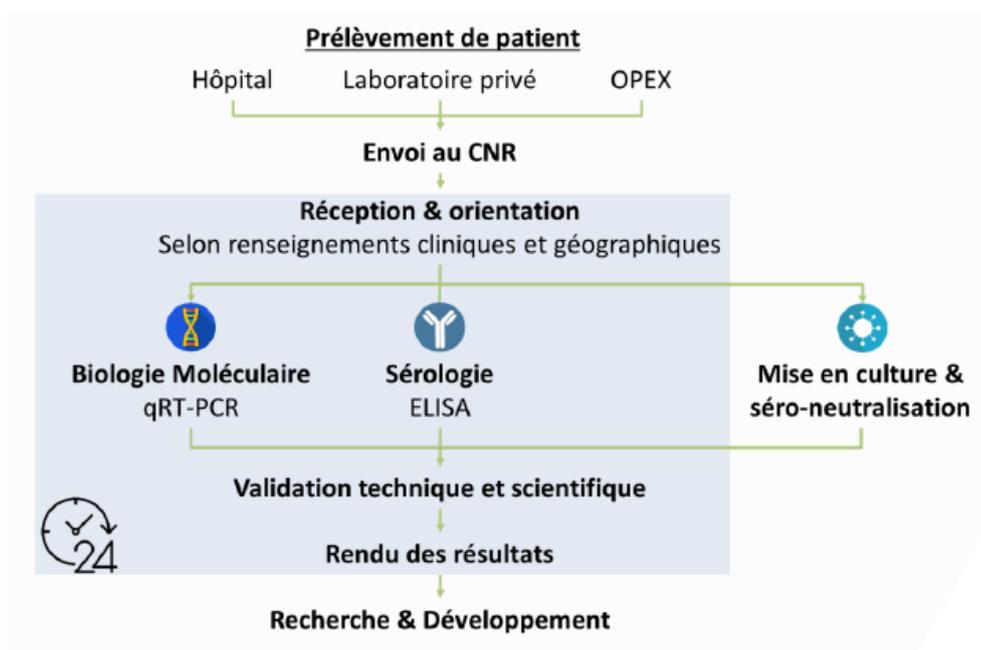


Figure. Diagramme illustrant le traitement d'un échantillon patient par le CNR des Arbovirus. En surlignage bleu figure la partie diagnostic à laquelle est soumis l'échantillon.

Liste des techniques disponibles pour l'analyse des échantillons :

- Sérologie : ELISA indirect IgG, capture des IgM (MAC-ELISA), séroneutralisation (test de neutralisation par réduction de titre), 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			
		Elisa (IgM / IgG)	Neutralisation	RT-PCR en temps réel	Culture
Alphavirus				•	•
	Chikungunya	•	•	•	•
	O' Nyong Nyong	•	•		•
	Ross River	•	•	•	•
	Sindbis	•	•		•
	Semliki Forest	•	•		•
	Mayaro	•	•	•	•
	Tonate	•	•		•
	Encéphalite équine du Vénézuéla (VEE)	•	•		•
	Encéphalite équine de l'Est (EEE)	•	•		•
	Encéphalite équine de l'ouest (WEE)	•	•		•
Flavivirus				•	•
	Fièvre jaune	•	•	•	•
	Dengue	•	•	•	•
	West Nile	•	•	•	•
	Usutu	•	•	•	•
	Wesselsbron	•	•		•
	Encéphalite à tiques	•	•	•	•
	Encéphalite japonaise	•	•	•	•
	Encéphalite de Saint Louis	•	•	•	•
	Zika	•	•	•	•
Bunyavirus				•	•
	Bunyamwera	•	•		•
	Tahyna	•	•		•
Phlebovirus				•	•
	Rift Valley fever	•	•	•	•
	Toscana	•	•	•	•
	Sandfly Sicilian	•	•	•	•
	Sandfly Naples	•	•	•	•

Tableau 1. Techniques d'analyse disponibles par virus.

Les techniques accréditées selon la norme NF ISO 15189 sont la sérologie (IgM et IgG) et la RT-PCR pour les virus de la dengue et du chikungunya. Concernant le virus de la dengue, la détection antigénique (antigène NS1) est 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 souriceaux nouveaux-nés) et productions d'ascites de souris hyper-immunes,

Genre	Virus	Sérologie	Culture	Typage		Biologie moléculaire	
		ELISA (IgM /IgG /IgA*)		IFI#α	MNT#	RT-PCR temps réel	RT-PCR
Alphavirus	Chikungunya	X*	X	X	X	X	
	Tonate	X	X	X		X	X
	Mayaro	X	X	X	X	X	X
	Encéphalite équine vénézuélienne		X	X			
Flavivirus	Fièvre jaune	X	X	X	X	X	X
	Dengue	X*	X	X	X	X	X
	Dengue typage		X	X	X	X	X
	West Nile	X	X	X		X	X
	Encéphalite de Saint Louis	X	X	X			X
	Zika	X*	X	X	X	X	
	Encéphalite japonaise					X	
Bunyavirus	Oropouche		X	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

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Rien à signaler.