

# RAPPORT ANNUEL

# D'ACTIVITE 2023

*Année d'exercice 2022*

## CNR Arbovirus

	<b>Organisme / Structure d'hébergement</b>	<b>Responsable</b>
Laboratoire Coordonnateur	Institut de Recherche Biomédicale des Armées	Isabelle Leparc-Goffart
Laboratoire Associé	Institut Pasteur de la Guyane - Cayenne	Dominique Rousset
Laboratoire Associé	CHU Saint Denis, La Réunion	Marie-Christine Jaffar-Bandjee

<b>Guide de remplissage</b> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Résumé analytique</b> .....	<b>4</b>
Faits marquants .....	4
<b>Executive summary</b> .....	<b>5</b>
Highlights .....	5
<b>1. Missions et organisation du CNR</b> .....	<b>6</b>
Organigramme .....	6
Mission et Organisation .....	9
Démarche Qualité .....	9
<b>2. Activités d'expertise</b> .....	<b>11</b>
2.1 Evolution des techniques .....	11
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees .....	12
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires .....	13
2.4 Collections de matériel biologique .....	13
2.5 Activités d'expertises .....	16
2.6 Activités de séquençage .....	26
2.7 Partage de séquences produites par les CNR .....	32
<b>3. Activités de surveillance</b> .....	<b>33</b>
3.1 Description du réseau de partenaires .....	33
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections .....	36
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux .....	39
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux .....	40
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance .....	41
<b>4. Alertes</b> .....	<b>42</b>
<b>5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil</b> .....	<b>43</b>
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé .....	43
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires .....	44
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...) .....	45
<b>6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR</b> .....	<b>46</b>
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR .....	46
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR .....	47

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux.....	50
8. Programme d'activité pour les années suivantes .....	51
1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR .....	53
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés .....	53
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.....	54
1.3 Locaux et équipements .....	56
1.4 Collections de matériel biologique.....	60
1.5 Démarche qualité du laboratoire .....	63
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....	64
2.1 Liste des techniques de référence.....	64
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR .....	66
3. Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques) .....	Erreur ! Signet non défini.
3.1 Permanence du CNR .....	Erreur ! Signet non défini.
3.2 Autorisations MOT .....	Erreur ! Signet non défini.
3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale .....	Erreur ! Signet non défini.
3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo.....	Erreur ! Signet non défini.
3.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France.....	Erreur ! Signet non défini.
3.6 Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNRErreur ! Signet non défini.	Erreur ! Signet non défini.
3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR .....	Erreur ! Signet non défini.

## RESUME ANALYTIQUE

### Faits marquants

En métropole, l'année 2022 a été exceptionnelle par le nombre de foyers de dengue autochtones (n=11, repartis dans 8 départements) et le nombre de cas autochtones (n=66). Le CNR-LC-IRBA a isolé ou séquencé les virus en cause dans 7/11 foyers, permettant d'orienter l'origine potentielle des introductions hors des territoires français ultramarins à l'exception d'un foyer probablement lié à l'épidémiologie de l'île de la Réunion. Les sérotypes impliqués étaient du sérotype 1 et du sérotype 3, impliqué pour la 1ère fois dans ces émergences locales. Le défaut d'échantillonnage au niveau mondial constitue une limite majeure à l'interprétation des sources d'introduction. L'expertise du CNR a néanmoins permis la distinction de différents foyers grâce aux arguments virologiques ainsi que le déclassement d'un cas suspect de dengue autochtone en cas d'infection par le virus Usutu. Les analyses de laboratoires sur des prélèvements tardifs par rapport à la phase virémique complexifient grandement l'interprétation des résultats sérologiques dans des régions où les virus dengue/ Zika / West-Nile/Usutu sont susceptibles de co-circuler. Cette année a également été marquante par l'augmentation du nombre de cas importés en métropole : dengue (379 cas en 2022 versus 231 en 2021), chikungunya (23 cas versus 4 en 2021) et Zika (7 cas versus aucun en 2021).

Dans les DFA, l'année 2022 a été très calme en matière de circulation des arbovirus avec de rares cas confirmés de dengue tandis qu'aucune détection de virus chikungunya ni Zika n'a été mise en évidence.

Cette année aura été l'occasion de développer un réseau visant la surveillance des autres arbovirus circulant en Guyane et de renforcer les outils de détection disponibles, permettant en fin d'année, de premières détections d'Orthobunyavirus du sérogroupe C jusqu'à présent non surveillés.

A La Réunion, on note en 2022 une réduction du nombre de cas de dengue.

## EXECUTIVE SUMMARY

### Highlights

In mainland France, 2022 was an exceptional year in terms of the number of native dengue outbreaks (n=11, spread across 8 departments) and the number of native cases (n=66). The CNR-LC-IRBA isolated or sequenced the viruses involved in 7/11 outbreaks, enabling to address the potential origin of introductions outside the French overseas territories, with the exception of one outbreak probably linked to the epidemiology of Reunion Island. The serotypes involved were serotype 1 and serotype 3, implicated for the 1st time in these local outbreaks. The lack of worldwide dengue sequences is a major limitation to the interpretation of sources of introduction. The virological expertise nevertheless allow to distinguish between different outbreaks on the basis of virological arguments, and to downgrade a suspected case of autochthonous dengue to infection by the Usutu virus. Laboratory analyses of samples taken late in the viremic phase greatly complicate the interpretation of serological results in regions where dengue/Zika/West-Nile/Usutu viruses are likely to co-circulate. The year was also marked by an increase in the number of imported cases in mainland France: dengue (379 cases in 2022 versus 231 in 2021), chikungunya (23 cases versus 4 in 2021) and Zika (7 cases versus none in 2021).

In the French overseas departments and territories (DFA), 2022 was a very quiet year in terms of arbovirus circulation, with rare confirmed cases of dengue and no detection of chikungunya or Zika viruses.

This year saw the development of a network to monitor other arboviruses circulating in French Guiana, and the strengthening of available detection tools, leading to the first detections of Orthobunyavirus serogroup C at the end of the year, which had not been monitored until now.

On Reunion Island, a reduction in the number of dengue cases is expected by 2022.

# 1. Missions et organisation du CNR

Afin d'améliorer la lisibilité, les acronymes suivants seront utilisés tout au long de ce rapport :

CNR-LC-IRBA : CNR laboratoire coordonnateur (IRBA)

CNR-LA-IPG : CNR Laboratoire associé (Institut Pasteur de la Guyane)

CNR-LA-LR : CNR Laboratoire associé (La Réunion)

## Organigramme

### CNR-LC-IRBA

En 2022, le laboratoire comptait 3 personnels cadres signataires (la directrice et deux adjoints), et 5 techniciens de laboratoire dont un vacataire. Le laboratoire n'avait pas de secrétaire.

Depuis l'appel à candidature, l'organigramme a évolué (Figure 1) :

- Changement de direction scientifique
- Recrutement de trois post-doc expertes en arbovirologie en CDI par l'INSERM
- Passage d'un technicien du statut vacataire IRBA vers CDD INSERM

Il y a en métropole un seul CNR fonctionnel, porté par l'INSERM (CNR coordonnateur, en vert sur la Figure 1) et l'IRBA (CNR Laboratoire Associé, en bleu sur la Figure 1).

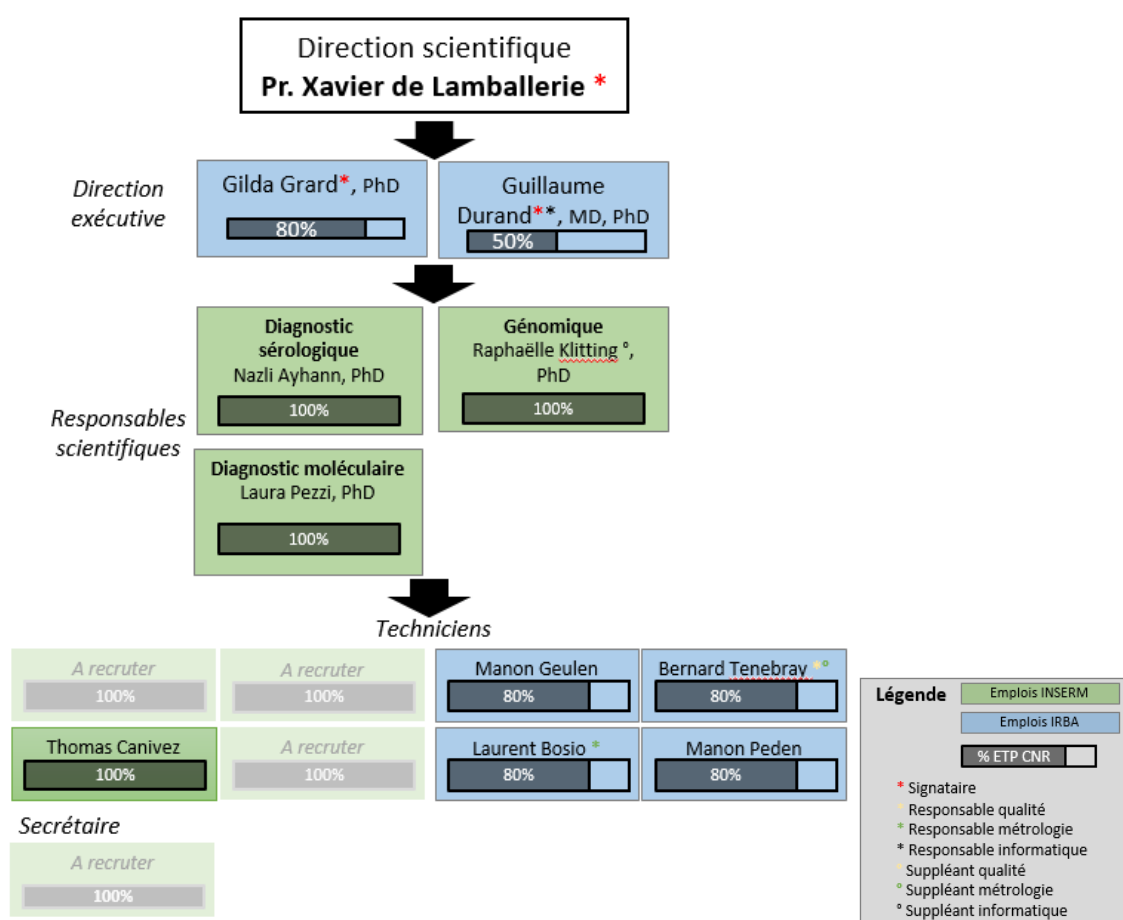
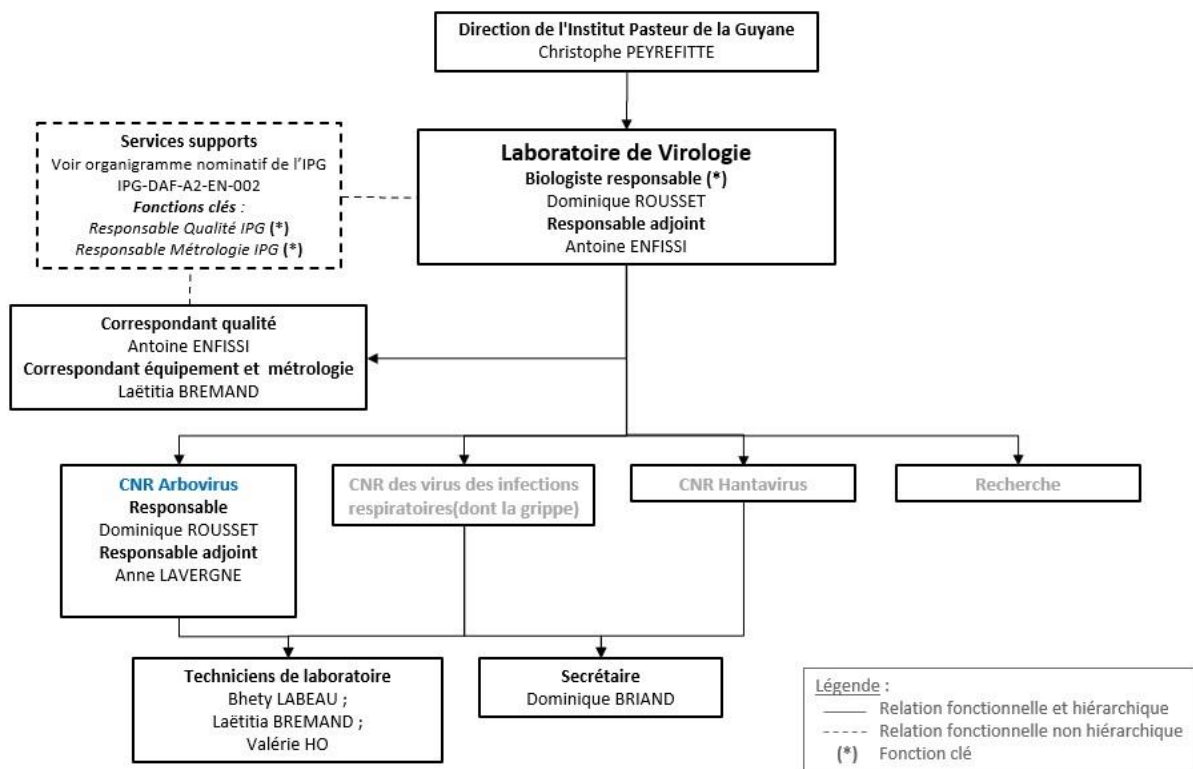


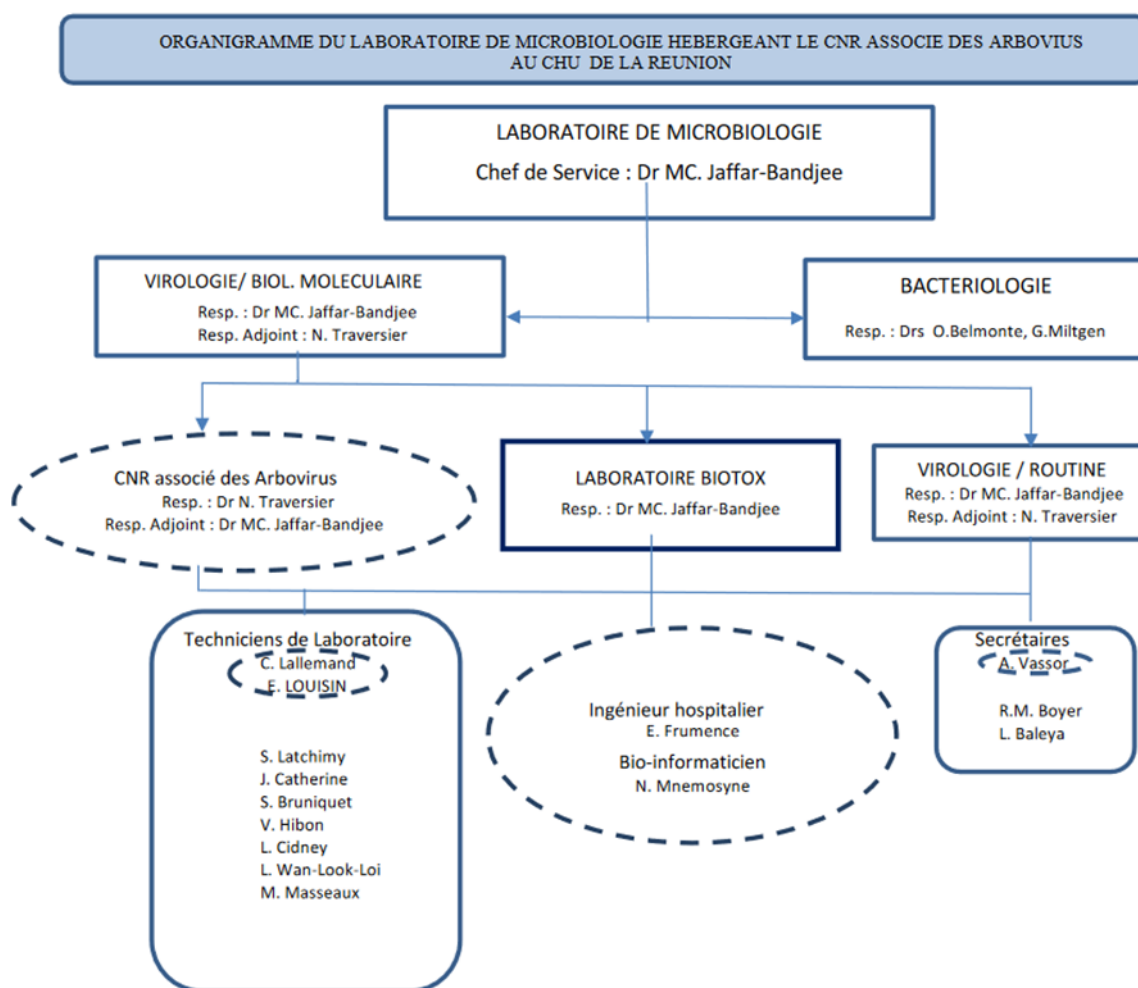
Figure 1 : Organigramme du CNR Arbovirus en 2023.

## CNR-LA-IPG

En 2022, des mouvements de personnels sont intervenus au CNR-LA-IPG au sein de l'équipe technique avec l'arrivée de Mme Ho (technicienne), et le départ en disponibilité de Mr Moua (technicien) ainsi que le changement de secrétaire (départ de Mme Thomas remplacée par Mme Briand).



**Figure 2 :** Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane en décembre 2022.



Nom	Prénom	Fonction	Qualification	Organisme Payeur	ETP CNR arbovirus
Traversier	Nicolas	Responsable	Pharm D	CHU	0.20
Jaffar-Bandjee	M-Christine	Responsable adjoint	MD, PhD	CHU	0,10
Frumence	Etienne	Ingénieur	PhD	CHU	1
Lallemand	Claudia	Technicienne (Biol mol)	BTS	CHU	1
Louisin	Elisma	Technicien de laboratoire (sérologie)	BTS	CHU	1
Mnémosyme	Nicolas	Bioinformaticien	BTS	CHU	0.20

**MODIFICATIONS PAR RAPPORT AU DOSSIER DE CANDIDATURE :**

Traversier Nicolas : 0.20 ETP au lieu de 0.30

Jaffar-Bandjee M-Christine : 0.10 ETP au lieu de 0.20

Ajout Mnémosome Nicolas (0.20 ETP), bioinformaticien

Supprimer Vasseur Anne (0.25 ETP) secrétaire



## Mission et Organisation

---

### CNR-LC-IRBA

---

En avril 2022, le CNR coordonnateur IRBA a changé de système informatique de gestion de laboratoire. Aucune réclamation ou augmentation de délai de rendu de résultat n'a été signalée. Les informations complémentaires sont listées dans l'Annexe 1.

---

### CNR-LA-IPG

---

Voir Annexe 1

---

### CNR-LA-LR

---

Voir Annexe 1

## Démarche Qualité

---

### CNR-LC-IRBA

---

Le laboratoire est accrédité par le COFRAC (n° d'accréditation 8-4083) selon la norme NF EN ISO 15189. 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 ELISA « maison » (sous-famille ISEROBM)

Ces analyses représentent 50% de l'activité diagnostique du laboratoire. La visite de réévaluation a eu lieu en juillet 2022. Cet audit (rapport d'évaluation n°SH-22-0140-1) n'a soulevé aucun écart majeur, et 3 écarts mineurs :

- 1- Concernant l'absence de suppléant au poste de responsable informatique : situation corrigée pour la mandature 2023-2027
- 2- Le délai de rendu de résultat est parfois supérieur au seuil défini dans le manuel qualité (en cas d'investigations approfondies)
- 3- Retard dans la formalisation du dossier de validation de méthode de l'automate CFX

Le laboratoire est également accrédité selon la norme ISO 9001.

---

## CNR-LA-IPG

---

Le laboratoire de virologie qui abrite le CNR-LA IPG, est accrédité par la section santé humaine, selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du COFRAC sous le numéro 8-3373. Le dernier audit Cofrac s'est déroulé en octobre 2021 (6 écarts non-critiques : 1- non formalisation des critères de planification des audits internes, 2- défaut d'affichage du logo COFRAC sur les comptes rendus de résultats pour les techniques accréditées. Les autres écarts ne concernaient pas le laboratoire de virologie mais les autres unités de l'IPG). Le prochain audit COFRAC aura lieu en juillet 2023. En 2022, la technique de typage moléculaire des virus de la dengue a été ajoutée aux techniques accréditées du CNR-LA-IPG.

---

## CNR-LA-LR

---

Rapport d'évaluation N° SH-21-0469-1 V00 du 10/08/2022.

4 écarts non critiques :

- DMT4 : vérification de l'intégrité de la sauvegarde des automates
- AAC1 : évaluation des formations du personnel médical
- AAC3 : affichage documentaire non référencée
- AAC4 : existence de documents qualité non applicables

## 2. Activités d'expertise

---

En terme d'expertise, les points marquants pour l'année 2022 sont :

Pour le CNR-LC-IRBA :

- Le démarrage d'une politique active d'évaluation des kits, en vue de la mandature suivante.
- Un « retour à la normale » (pré-covid) en terme de nombre d'échantillon reçu
- Un nombre exceptionnel de cas autochtones, et une augmentation du nombre de cas importés

Les trois CNR cumulés ont augmentés leur collection biologique de 58 virus appartenant aux genre flavivirus, alphavirus et orthobunyavirus. Enfin, les trois CNR ont également les moyens en interne d'assurer une activité de séquençage.

### 2.1 Evolution des techniques

---

#### CNR-LC-IRBA

---

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.

En 2022, le laboratoire a changé d'automate d'amplification pour la biologie moléculaire : abandon des Light Cyclers au profit d'automate CFX (Biorad). Concernant la sérologie, le laboratoire a intégré dans son flux diagnostic, en deuxième ligne de son ELISA « maison », l'automate EUROIMMUN I2P (kits sérologiques Zika IgAM et IgG, dengue IgM et IgG, West Nile IgM et IgG). L'évaluation de cet automate sera complétée en vue de son intégration plus exhaustive pour le mandat 2023-2027 et la certification de la méthode selon la norme ISO 15189.

---

#### CNR-LA-IPG

---

En 2022, mise en place de nouvelles techniques :

- Détection d'Orthobunyavirus (OBV) du séro groupe C (Oriboca / Caraparu) par RT-qPCR multiplex
- Détection de Phlebovirus (Bujaru-like) par RT-qPCR
- Séquençage complet du génome du virus Mayaro technologie Oxford Nanopore (NGS-MinION)

En 2022-23, nous avons mis en place le séquençage génomique des virus de la Dengue et du Chikungunya en utilisant la technologie de séquençage NGS d'Oxford Nanopore, basée sur le protocole de séquençage (consortium Artic) de génomes viraux directement à partir d'échantillon clinique. Cette approche améliore la compréhension de l'épidémiologie des arbovirus circulant sur notre île. La majorité des échantillons de virus de la Dengue reçu au CNR en 2022 et 2023 avec une charge virale suffisante ont été génotypés.

Nous développons aussi le séquençage du virus Zika, en se basant sur le même protocole.

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

---

### CNR-LC-IRBA

---

#### **TROD dengue**

Le laboratoire a évalué deux TRODs combinés NS1/IgM/IgG de la société AAZ : « TROD'DENGUE – TR-DEN-002 » (RU) et le « DUO DENGUE – TR-DEN-003 » (CE). Le laboratoire a acheté 40 tests et les a évalués sur un panel de sérums caractérisés. Les tests NS1 se sont avérés aussi performant que le TROD SD Bioline avec 100% de concordance. Le TROD DEN-002 a montré une sensibilité de 70% (IgM) et 53% (IgG). Le TROD DEN-003 a montré une sensibilité de 35% (IgM) et 58% (IgG).

#### **Vircell IgG dengue**

En collaboration avec Biomnis, le laboratoire a évalué ce kit sur une cohorte de 253 échantillons constituée à Mayotte par Santé Publique France. Comparativement à la séroneutralisation, ce kit a montré une sensibilité de 100% et une spécificité de 46%.

#### **EUROIMMUN dengue IgG**

Le kit EUROIMMUN a également été évalué sur cette même cohorte mahoraise Il a montré une sensibilité de 98.3% et une spécificité de 45% versus la séroneutralisation.

#### **Virclia IgM et IgG West Nile**

En collaboration avec Biomnis, nous avons évalué les kits Virclia sur un panel de 13 échantillons préalablement caractérisés. Cette évaluation continue en 2023 avec la collaboration de plusieurs CHU.

---

### CNR-LA-IPG

---

Rien à signaler en 2022

---

### CNR-LA-LR

---

Evaluation du kit de sérologie Dengue Abbott (en cours) qui montre un défaut de sensibilité par rapport à la technique Euro-immun.

## 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

---

### *CNR-LC-IRBA*

---

Rien à signaler en 2022

---

### *CNR-LA-IPG*

---

Rien à signaler en 2022

---

### *CNR-LA-LR*

---

Rien à signaler en 2022

## 2.4 Collections de matériel biologique

---

### *CNR-LC-IRBA*

---

La collection de souches virales du CNR Arbovirus-IRBA a été enrichie de 43 isolats viraux collectés en 2022. Deux stratégies sont mises en place pour l'isolement des souches.

La première consiste en la mise en culture systématique sur cellules Véro et cellules C6/36 de tout prélèvement précoce (i.e. délai entre la date de prélèvement et la date de début des signes inférieur à 3 jours) chez un patient au retour d'un pays endémique pour les arbovirus. Le tableau 1 résume les résultats : sur 136 échantillons mis en culture, 23 ont montré un ECP. Parmi ces dernières cultures, 14 ont été identifiés comme étant des souches du virus de la dengue et 9 se sont avérées négatives sur le panel testé en RT-PCR. Ces dernières vont donner lieu à des investigations plus poussées.

**Tableau 1.** Souches isolées avec la stratégie d'isolement systématique des prélèvements précoces

	Nombre	Identification
<b>Echantillons mis en culture</b>	<b>136</b>	
<b>Cultures positives</b>	<b>23</b>	
Bali	1	DEN-3
Cameroun	2	En cours
Congo	1	En cours
Cote d'Ivoire	2	DEN-3
Cote d'Ivoire	2	En cours
Cuba	3	DEN-3
Djibouti	1	DEN-3
Guadeloupe	1	DEN-2
Inde	1	DEN-1
La Réunion	1	En cours
Mexique	2	DEN-1
Namibie	1	En cours
Rép. Dominicaine	1	En cours
Sénégal	1	DEN-3
Sri Lanka	1	DEN-3
Tanzanie	1	En cours
Thaïlande	1	DEN-3

La deuxième stratégie consiste à tenter d'isoler la souche lorsqu'un diagnostic direct est posé en RT-PCR. Le tableau 2 présente les résultats de cette stratégie. Vingt souches ont ainsi été isolées.

**Tableau 2.** Souches isolées avec la stratégie d'isolement des échantillons positifs en RT-PCR

Origine	DEN-1	DEN-2	DEN-3	DEN-4	DEN-NT	ZIK	WN	FJ	USU	CHIK	TOS	
	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	MEC Culture +	
<b>France métropolitaine</b>												
Cas autochtones	8	3	4	1			2	2				
Autre						1	0	2	1		1	0
<b>Europe autre</b>												
Italie							1	0	1	0		
Serbie							1	0				
<b>Afrique</b>												
Bénin	1	0										
Burkina Faso			1	0	1	0						
Cote d'Ivoire	3	1	1	0								
Congo			1	0								
Guinée			1	1								
Mayotte		1	0									
Djibouti			2	0								
Sao Tome			1	0								
<b>Amérique Centrale et Antilles</b>												
Cuba	3	2	4	1								
Mexique	1	0	1	1								
Guadeloupe		3	2									
<b>Amérique du Sud</b>												
Brésil	1	1										
Costa Rica	1	0										
<b>Asie</b>												
Inde	3	2										
Indonésie			2	0						2	0	
Thaïlande	1	0	1	0		1	0					
<b>Océan Indien</b>												
La Réunion	3	1										
Seychelles	1	0										
<b>Inconnue</b>		1	1	3	0	2	0					

MEC = prélèvement mis en culture (tentative d'isolement) ; DEN-NT = dengue non typable en PCR.

---

### CNR-LA-IPG

---

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

En 2022, les collections du CNR-LA-IPG se sont enrichies de 6 isolats :

- 2 isolats d'Orthobunyavirus du séro groupe C (en cours de caractérisation : ces 2 isolats présentent des séquences Oriboca-like sur leur segment S) : ces isolats ont été obtenus à partir d'échantillons provenant de laboratoires de Biologie médicale de l'île de Cayenne prélevés respectivement les 30/09/2022 et 21/10/2022
- 4 isolats de virus Mayaro : ces isolats ont été obtenus à partir d'échantillons provenant de laboratoires de Biologie médicale de l'île de Cayenne prélevés entre le 22/07/2020 et le 01/09/2020.

Malgré notre souhait de renforcer les tentatives d'isolement viral par une mise en culture plus systématique des prélèvements précoces, cela n'a pas été possible en 2022 du fait de la faiblesse des effectifs associée au départ du technicien en charge de cette activité spécialisée.

---

### CNR-LA-LA

---

En 2023, notre collection s'est enrichie de :

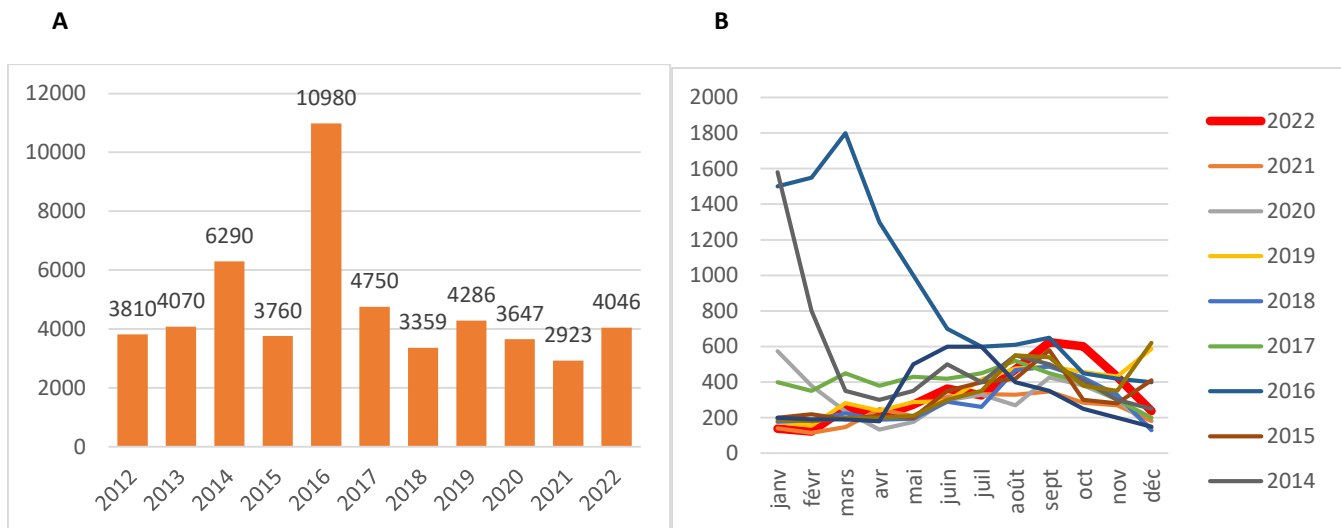
- 9 nouveaux échantillons (plasma et sérums) de virus de la Dengue, provenant des laboratoires hospitaliers et de biologie médicale de la Réunion soit 3 DENV1, 5 DENV2, et 1 DENV4. Les prélèvements avec une charge virale suffisante seront isolés au P3 au cours de cette année.

## 2.5 Activités d'expertises

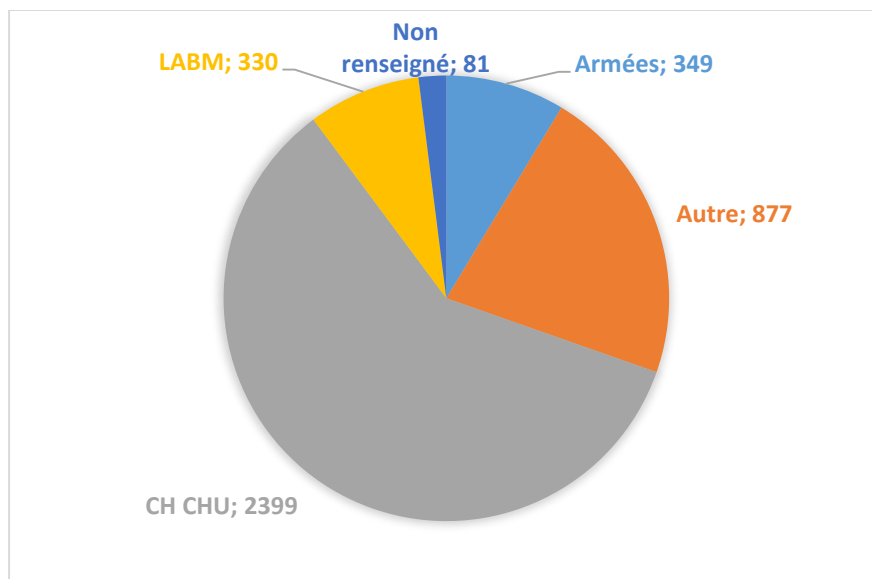
### CNR-LC-IRBA

En 2022, le délai habituel de rendu de résultat (sérologie et biologie moléculaire) était de 48h ouvrés.

Le CNR-LC-IRBA a reçu 4046 prélèvements en 2022 (Figure 3). Parmi eux, 60% provenaient de CH ou CHU (Figure 4).



**Figure 3.** 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



**Figure 4.** Nombre de prélèvements reçus en fonction de leur provenance. CH = Centre Hospitalier ; CHU = Centre Hospitalier Universitaire ; LABM = Laboratoire de Biologie Médicale ; Autre = Greffes, Médecins Sans Frontière, etc.



Un total de 5.3% (n=215) des prélèvements n'ont pas été analysés en raison de non conformités bloquantes, d'erreur de prescription ou de destinataire (Tableau 3). Parmi les prélèvements analysés, 47% des échantillons provenaient de métropole et les autres étaient associés à un séjour outre-mer. Les investigations réalisées sur ces prélèvements comptent 32476 sérologies, et 15186 PCR (tableau 4). Un total de 634 échantillons a été analysé uniquement en PCR, 974 a été analysé uniquement en sérologie, et 2221 a été analysé en PCR et sérologie.

**Tableau 3.** Bilan du nombre de prélèvements reçus et détail par analyse.

	No d'échantillons testés	No analyses
<b>Sérologies</b>		
dengue (ELISA CNR)	3180	6360
dengue (EI)	53	106
Zika (ELISA CNR)	2048	4096
Zika (EI *)	873	1746
fièvre jaune (ELISA CNR)	437	874
West Nile (ELISA CNR)	3161	6322
West Nile (EI)	9	18
Encéphalite à tique (ELISA CNR)	2274	4548
Encéphalite à tique (EI)	2	4
Encéphalite Japonaise (ELISA CNR)	91	182
Encéphalite Saint Louis (ELISA CNR)	11	22
chikungunya (ELISA CNR)	3140	6280
Fièvre de la Vallée du Rift (ELISA CNR)	281	562
Mayaro	86	172
O Nyong Nyong	7	14
Ross River	1	2
Toscana	584	1168
<b>Total Sérologie</b>	<b>3195</b>	<b>32476</b>
<b>Biologie moléculaire</b>		
dengue (système pan dengue)	2821	2821
dengue (typage)	230	920
Zika	2771	2771
fièvre jaune	391	391
West Nile	2805	2805
Encéphalite à tique	1862	1862
Encéphalite Japonaise	62	62
Chikungunya	2669	2669
Fièvre de la Vallée du Rift	505	505
Mayaro	63	63
Toscana	317	317
<b>Total Biologie moléculaire</b>	<b>2855</b>	<b>15186</b>
<b>Séroneutralisation</b>	<b>40</b>	<b>152</b>
<b>Echantillons recus non testés **</b>	<b>215</b>	<b>-</b>

\* test ELISA EUROIMMUN : IgAM et IgG

\*\* Non analysés car absence de renseignement, tube vide ou cassé, ...

EI = EUROIMMUN

**Tableau 4.** Lieux de séjour associés aux prélèvements analysés par le CNR-LC

Zones géographiques	No	%
<b>Territoires Français</b>		
Métropole	1595	47,1
Antilles françaises	51	1,5
<i>total</i>	<b>1646</b>	<b>48,6</b>
<b>Europe</b>		
Europe Centrale	55	1,6
Europe de l'est	5	0,1
Europe de l'ouest	456	13,5
Europe du nord	12	0,4
<i>total</i>	<b>528</b>	<b>15,6</b>
<b>Moyen orient</b>		
<i>total</i>	<b>9</b>	<b>0,3</b>
<b>Afrique</b>		
Afrique centrale	213	6,3
Afrique de l'est	255	7,5
Afrique de l'ouest	105	3,1
Afrique du Nord	46	1,4
Afrique du Sud	12	0,4
<i>total</i>	<b>631</b>	<b>18,6</b>
<b>Océan indien</b>		
<i>total</i>	<b>56</b>	<b>1,7</b>
<b>Asie</b>		
Asie centrale	23	0,7
Asie du sud est	68	2,0
<i>total</i>	<b>91</b>	<b>2,7</b>
<b>Amériques</b>		
Amérique centrale et Caraïbes	74	2,2
Amérique du Nord	39	1,2
Amérique du Sud	75	2,2
<i>total</i>	<b>188</b>	<b>5,6</b>
<b>Océan pacifique</b>		
<i>total</i>	<b>5</b>	<b>0,1</b>
<b>Inconnu</b>		
<i>total</i>	<b>231</b>	<b>6,8</b>

Parmi les échantillons analysés en PCR, et parmi les patients ayant séjourné en dehors de la métropole, nous avons diagnostiqué essentiellement de la dengue en grande partie à Djibouti (Tableau 5). Les sérotypes circulants étaient essentiellement le type 2 (Djibouti, Mayotte, Guadeloupe) et type 3 (Djibouti, Afrique sub-saharienne et Mexique). Par ailleurs, 1 cas de chikungunya au retour d'Indonésie, et 1 cas de Zika au retour de Thaïlande ont été identifiés L'année 2022 a été marquée par une importante épidémie à Cuba de dengue 3 (7 PCR positives, un isolement viral).

**Tableau 5.** Nombre de prélèvements positifs en PCR en fonction du lieu de séjour du patient (hors métropole) en 2022.

2022	Dengue non typée	DEN 1	DEN 2	DEN 3	CHIK	ZIK
<b>Afrique</b>						
Bénin		1				
Burkina Faso	1			2		
Congo				1		
Côte d'Ivoire	3	5		5		
Djibouti		1	42	22		
Guinée				1		
Mayote			2			
Niger		1		2		
La Réunion		1		1		
Sao Tomé-et-Principe				1		
Sénégal				4		
Tchad	1					
<i>total</i>	5	9	44	39	0	0
<b>Amérique</b>						
Brésil		1				
Colombie						
Costa Rica		1				
Guyane		1				
Mexique		3	1	1		
Pérou						
<i>total</i>	0	6	1	1	0	0
<b>Asie</b>						
Bali				1		
Inde		1	1			
Indonésie				2	1	
Sri Lanka				1		
Thaïlande		1		2		1
<i>total</i>	0	2	1	6	1	1
<b>Caraïbes</b>						
Cuba		3		7		
Guadeloupe			4			
<i>total</i>	0	3	4	7	0	0
<b>Océan Indien</b>						
Seychelles		1				
<i>total</i>	0	1	0	0	0	0
<b>Inconnu</b>	1		3	2		
<b>Total par virus</b>	5	21	50	53	1	1

➤ **Accident vaccinal amaril**

Un accident vaccinal au virus de la fièvre jaune a été investigué en 2022. Il s'agissait d'une patiente de 34 ans, hospitalisée en réanimation dans un CH d'Ile de France. Elle avait présenté une défaillance multi viscérale avec syndrome d'activation macrophagique environ 6 jours après vaccination anti-amarile. Le génome du virus a été détecté dans le sang total, dans la biopsie hépatique et dans la moelle osseuse, jusqu'à 23 jours après vaccination. Les tentatives d'isolement viral n'ont pas abouties mais le virus a cependant pu être séquencé partiellement. L'analyse phylogénétique a confirmé qu'il s'agissait d'une souche vaccinale (Figure 5). La patiente s'est rétablie de sa maladie. Ce cas sera probablement publié.



**Figure 5.** Positionnement phylogénétique de la souche du virus de la fièvre jaune à l'origine d l'accident vaccinal enregistré en 2022.

➤ **Cas d'infection fœtale à virus Zika**

Le CNR a été sollicité au printemps 2022 pour la confirmation d'une infection fœtale au virus Zika. Il s'agissait d'une patiente ayant séjournée en Thaïlande pendant 3 semaine lors de son premier trimestre de grossesse. La patiente n'a déclaré aucun symptôme durant son séjour. La première échographie fœtale était normale, mais la seconde, après son retour en France montrait des anomalies sévères à type de microcéphalie, anomalies du parenchyme et calcifications cérébrales. Devant une PCR Zika faiblement positive au laboratoire du CHU, un arrêt médical de grossesse est réalisé à 26 semaines d'aménorrhées. La confirmation a été réalisée par PCR et séquençage d'une biopsie cérébrale du fœtus. L'analyse phylogénétique montre qu'il s'agit d'une souche de Zika d'un lignage asiatique, de divergence antérieure à la lignée associée à l'épidémie-américaine. La recherche de mutations d'intérêt n'a pas permis de mettre en évidence de mutations signatures potentiellement associées à une microcéphalie. Ce cas est en cours de publication.

➤ **Cas autochtones de dengue en 2022**

L'année 2022 a été exceptionnelle quant au nombre de foyers (11) et au nombre de cas autochtones (66). Le CNR a été sollicité pour la confirmation des premiers cas de chaque foyer. Nous avons reçu et analysés des prélèvements pour 38 (57%) cas. Le tableau 6 résume les principaux résultats d'investigation réalisés au CNR. Le CNR-LC-IRBA a isolé ou séquencé les virus en cause dans 7/11 foyers, permettant d'orienter l'origine potentielle des introductions hors des territoires français ultramarins à l'exception d'un foyer probablement lié à l'épidémiologie de l'île de la Réunion. Les sérotypes impliqués étaient du sérotype 1 et du sérotype 3, impliqué pour la 1ère fois dans ces émergences locales. Le défaut d'échantillonnage au niveau mondial constitue une limite majeure à l'interprétation des sources d'introduction

**Tableau 6.** Résumé des cas autochtones de dengue en France métropolitaine, avec les résultats des investigations biologiques

Foyer/Cluster	Statut	Réception CNR	Sérologie	RT-qPCR	Séro-neutralisation	Culture	Séquençage	Origine (viro)*	Origine (épidémio)**
Fayence-1	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-1	NF	POS	OUI (genotype I)	Brésil	
Fayence-2	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-1	NF	POS	OUI (genotype I)	Brésil	
Fayence-3	Probable	Analysé au CNR	POS	NON	NF	Echec	NF		
Fayence-4	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-1	NF	Echec	Echec		?
Fayence-5	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NON	NF	NF	NF		
Fayence-6	Confirmé	LABM seul	NF	NF	NF	NF	NF		
Fayence-7	Confirmé	LABM seul	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-01	Confirmé	Analysé au CNR	NF	DEN-3	NF	POS	OUI (genotype III)	Afrique	
Gattières-02	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-3	NF	NF	NF		
Gattières-03	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-04	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-05	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-06	Confirmé	Analysé au CNR	IgM seuls	DEN-3	NF	Echec	Echec		
Gattières-07	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-08	Probable	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-09	Epidémio	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-10	Epidémio	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Gattières-11	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-01	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NON	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-02	Confirmé	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	Echec	Echec		
Saint-Jeannet-03	Confirmé	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	POS	OUI (genotype III)	Afrique	
Saint-Jeannet-04	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-05	Confirmé	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	Echec	OUI (genotype III)	Afrique	
Saint-Jeannet-06	Probable	Analysé au CNR	NEG	NON	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-07	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-3	NF	NF	NF		?
Saint-Jeannet-08	Probable	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-09	Probable	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-10	Confirmé	Analysé au CNR	NF	DEN-3	NF	NF	OUI (genotype III)	Afrique	
Saint-Jeannet-11	Probable	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-12	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-13	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-14	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-15	Epidémio	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-16	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-17	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-18	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-19	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-20	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-21	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-22	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NON	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-23	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
Saint-Jeannet-24	Confirmé	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
St-Laurent-Var-01	Confirmé	Analysé au CNR	IgM seuls	DEN-1	NF	POS	OUI (genotype V)	Caribes	
St-Laurent-Var-02	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NON	NF	NF	NF		
St-Laurent-Var-03	Confirmé	Analysé au CNR	NF	DEN-1	NF	Echec	Echec		

Tableau 6. Suite

St-Laurent-Var-04	Probable	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		
St-Laurent-Var-05	Probable	Non reçu CNR	NF	NF	NF	NF	NF		Inconnue
St-Laurent-Var-06	CNR	Analysé au CNR	POS	NF	NF	NF	NF		
St-Laurent-Var-07	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NON	NF	NF	NF		
St-Laurent-Var-08	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-1	NF	NF	NF		
St-Laurent-Var-09	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NEG	NF	NF	NF		
St-Laurent-Var-10	Confirmé	Analysé au CNR	NEG	DEN-1	NF	NF	Echec		
ANDREST(65)-1	confirme	Analysé au CNR	POS	DEN-1	NF	NEG	Echec		
ANDREST(65)-2	confirme	Analysé au CNR	NEG	DEN-1	NF	POS	OUI (genotype V)	La Réunion	La Réunion
ANDREST(65)-3	confirme	Analysé au CNR	NEG	NF	D1 (1:160)	NF	NF		
RABASTENS-DE-BIGORRE(65)-1	confirme	Analysé au CNR	POS	DEN-1	NF	NF	NF		?
LA SALVETAT-SAINT-GILLES-1	confirme	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	QI	OUI (genotype III)	Afrique	
LA SALVETAT-SAINT-GILLES-2	confirme	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	QI	QI		RDC
LA SALVETAT-SAINT-GILLES-3	confirme	Analysé au CNR	POS	NF	NF	NF	NF		
LA SALVETAT-SAINT-GILLES-4	confirme	Analysé au CNR	POS	NF	NF	NF	NF		
LECCI(2A)-1	confirme	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	NEG	Echec		
LECCI(2A)-2	confirme	Analysé au CNR	POS	NF	NF	NF	NF		?
MOUTROT(54)-1 ***	confirme	Analysé au CNR	POS	NEG	D2 (1:40) D3 (1:40)	NF	NF		?
PERPIGNAN(66)-1	confirme	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	NF	OUI (genotype III)	Cote d'Ivoire	Cote d'Ivoire
TOULOUSE(31)-1	confirme	Analysé au CNR	NF	DEN-3	NF	NF	OUI (genotype III)	Cuba / Floride	?
TOULOUSE(31)-2	confirme	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NF	NEG	NF		

Sérologies : positif si présence d'IgM et d'IgG, ou séroconversion.

\* origine supposée sur le plan virologique (arbre phylogénétique)

\*\* origine supposée sur le plan épidémiologique

\*\*\* patient ayant séjourné à Montauban

### ➤ Cas West Nile en 2022

Deux cas de d'infection par le virus WNV ont été confirmés. Le premier concernait un patient résident à la Seyne sur mer, sans voyage, qui a présenté un tableau de méningite. Une PCR est revenue positive sur sérum à J8 de sa date de début des signes. La souche a été isolée et le séquençage a montré qu'il s'agissait d'un lignage 2. Cette souche groupe avec des séquences obtenues en France en 2018 à partir d'oiseaux dans les Alpes maritime. Le deuxième cas confirmé était une patiente immunodéprimée, habitant Saint Maximin (83), ayant présenté le 12 décembre une forte fièvre suivi d'un syndrome méningé. Les PCR étaient positives pour le virus WNV de J2 à J18.

Par ailleurs, quatre cas probables ont été identifiés :

- A Eguilles (13) : patient ayant présenté un syndrome méningé avec rash cutané, sans voyage rapporté. Après élimination des autres arbovirus, il est ressorti des IgM et des IgG dans le sérum et le LCR de ce patient à J8.
- A Le Pradet (83) : sérologie positive IgM et IgG anti-WNV. Ce patient réside à 3km d'un cas équin rapporté par le réseau de surveillance vétérinaire.
- A Aix en Provence (13) : sérologie positive IgM et IgG anti-WNV
- A Le Pradet (83) : donneur de sang identifié par l'Etablissement Français du sang devant une symptomatologie évocatrice. Sérologie positive IgM et IgG anti-WNV, et présence d'anticorps neutralisant le virus WNV.

### ➤ Cas de TBEV en 2022

Dix cas d'infections par le virus TBEV ont été identifiés par le CNR en 2022. Le tableau 7 résume les résultats biologiques de ces cas.

**Tableau 7.**

Patient	Lieu diagnostic	Lieu d'acquisition	Piqure de tique	Date de début des signes	Diagnostic CNR
H, 11 ans	Nancy	Vosges	Inconnue	23/08/22	IgM+ IgG+
F, 18 ans	Nancy	Grand Est	Oui	06/06/22	IgM+ IgG+
H, 19 ans	Avignon	Ain	Non retrouvée	15/06/22	IgM+ IgG- Puis IgM+ IgG+
H, 64 ans	Besançon	Doubs	Inconnue	10/06/22	IgM+ IgG+
H, 59 ans	Strasbourg	Grand Est	Inconnue	01/07/22	IgM+ IgG-
H, 74 ans	Saint Etienne	Inconnue	Inconnue	15/07/22	IgM+ IgG+
H, 22 ans	Saint Etienne	Inconnue	Inconnue	01/06/22	IgM+ IgG+
H, 45 ans	Nancy	Lettonie	Inconnue	15/08/22	IgM+ IgG+
F, 50 ans	Clermont-Ferrand	Autriche	Inconnue	18/06/22	IgM+ IgG+
F, 35 ans	Clermont-Ferrand	Auvergne-Rhône-Alpes	Inconnue	09/09/22	IgM+ IgG- (LCR + sérum)

#### ➤ Cas de fièvre de la Vallée du Rift

Le CNR a déclaré en mars 2022 un cas de fièvre de la vallée du Rift contracté au Burkina Faso en octobre 2021. Le patient avait voyagé du 28/10/2021 au 05/11/2021 et a présenté à son retour un tableau fébrile avec céphalées qui a débuté le 06/11, secondairement accompagné, le 15/11, de manifestations ophtalmologiques avec flou visuel et scotome central. Le patient n'a pas complètement récupéré de ses symptômes oculaires. Le diagnostic a été réalisé sur 2 prélèvements qui montraient une sérologie de la fièvre de la vallée du Rift était fortement positive en IgM et IgG. Les PCR sang et urines étaient négatives. Les sérologies chikungunya, dengue, West-Nile et Zika étaient négatives. Ce diagnostic a été tardif car non évoqué initialement. Le mode de contamination est inconnu : soit vectoriel lors de la visite d'élevage de zébus, soit alimentaire en cas de consommation de produits laitiers insuffisamment pasteurisés.

#### ➤ Toscana en 2022

Quatre cas ont été diagnostiqués au CNR : deux cas importés (Tunisie, Turquie) et deux cas en France métropolitaine (Nîmes et Avignon). Les diagnostics étaient sérologiques avec présence d'IgM et d'IgG anti-Toscana virus. Une PCR était positive pour le patient de Nîmes.

### CNR-LA-IPG

Le nombre de prélèvements reçus en 2022 par le CNR-LA IPG reçus pour expertise, diagnostic et/ou confirmation de diagnostic d'infection par un arbovirus au CNR-LA-IPG a été de 1836, en baisse par rapport aux années précédentes. Le bilan des prélèvements reçus en fonction de leur provenance et des analyses réalisées est présenté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 8.** Prélèvements reçus en 2022 en fonction de leur provenance avec bilan des analyses réalisées

PROVENANCE	Total plvts reçus en 2022	Total plvts testés en sérologie	Nb total antigènes testés*	Analyses spécifiques	Nb Plvts testés en PCR	Nb cibles testées en PCR**	PCR positives
<b>Guyane</b>	<b>1820</b>	<b>1088</b>	<b>5107</b>	<b>7</b>	<b>859</b>	<b>7261</b>	<b>6</b>
Centres de Santé	67	59	307		17	163	
CH Cayenne	903	819	4076	5 IgA Flavi + 1 Sero WN	159	1749	1 OBV
CH Saint Laurent	148	121	350	1 IgA Flavi	44	359	
CMIA	4	3	17		3	34	
Labo Kourou	3	2	10		3	16	1 DEN3
Labo Saint Laurent	5	1	5		5	31	
Labos Ile de Cayenne	691	83	342		628	4909	1 DEN2 + 3 OBV
<b>Martinique</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>75</b>		<b>15</b>	<b>60</b>	
Laboratoires BS	15	15	75		15	60	
<b>Total</b>	<b>1836</b>	<b>1103</b>	<b>5182</b>	<b>7</b>	<b>874</b>	<b>7321</b>	<b>6</b>

\*Ag testés: panel *Dengue*, *Yellow Fever*, *Tonate*, *Mayaro*, *Chikungunya*, et/ou *Zika*

\*\* Cibles PCR : parmi les virus *Dengue*, *Chikungunya*, *Zika*, *Yellow Fever*, *Tonate*, *Mayaro*, *Ilheus*, *West-Nile*, *Encephalite Saint-Louis*, *Encephalite japonaise*, *Oropouche*, *Orthobunyavirus serogroupe C*, *Phlebovirus Bujaru-like*.

Le délai moyen de rendu des résultats du CNR aux Laboratoires en 2022 a été pour les sérologies de 4.6 jours et pour les PCR dengue : 2.6 jours, Zika : 3.4 jours et Chikungunya : 3.6 jours par rapport à la date de prélèvement et donc incluant les délais d'acheminement entre le laboratoire préleveur et le CNR (au minimum de 24h et parfois de plusieurs jours). Les délais plus longs pour les sérologies s'expliquent par des techniques réalisées sur 2 jours (avec une incubation sur la nuit).



Tableau 9. Bilan général de l'activité du CNR LR en 2022

	2022	
	n	%
<b>N total analyses</b>	8595	
<b>DENGUE</b>		
<b>Sérologies</b>	2020	
IgM+ isolés	60	2,97
IgG isolés	90	4,46
IgM+ IgG+	86	4,26
<b>RT PCR</b>	2944	
Positif	57	1,94
<b>Typage</b>	425	
D1 Positif	405	95,29
D2 Positif	2	0,47
D3 Positif	0	0,00
D4 Positif	0	0,00
<b>CHIKUNGUNYA</b>		
<b>Sérologies</b>	495	
IgM+ isolés	17	3,43
IgG isolés	143	28,89
IgM+ IgG+	22	4,44
<b>RT PCR</b>	2710	
Positif	0	0
<b>ZIKA</b>		
<b>Sérologies</b>	1	
IgG positifs	0	0
<b>RT PCR</b>	0	
Positif	0	0

**Tableau 10.** Origine des prélèvements en 2022

	Dengue						Chikungunya			
	Sérologies		RTPCR		Typage		Sérologies		RTPCR	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
CHU Réunion	1717	85,00	2633	89,44	64	15,06	440	88,89	2552	94,17
CH Mayotte	0	0,00	0	0,00	1	0,24	0	0,00	0	0,00
CHOR	290	14,36	274	9,31	2	0,47	25	5,05	116	4,28
LABM	13	0,64	37	1,26	358	84,24	30	6,06	42	1,55
<b>Total</b>	<b>2020</b>	<b>100</b>	<b>2944</b>	<b>100</b>	<b>425</b>	<b>100</b>	<b>495</b>	<b>100</b>	<b>2710</b>	<b>100</b>

L'année 2022 a été marquée par une réduction du nombre de cas de Dengue à la Réunion. Elle marque ainsi la fin de l'épidémie de Dengue 1 qui a débuté en 2020. Nous avons réalisé 2944 RT-PCR pour le CHU dont 57 positifs. 425 typages du virus de la Dengue ont été réalisés dont nos 57 positifs, les 368 autres provenant d'un échantillonnage effectué par SPF Réunion issu des autres laboratoires publiques et privés de l'île.

Délai moyen de rendu des résultats :

- RT-PCR dengue, chikungunya : 24-48h
- Sérologie : 2 à 6 jours
- Typage : 10-12 jours

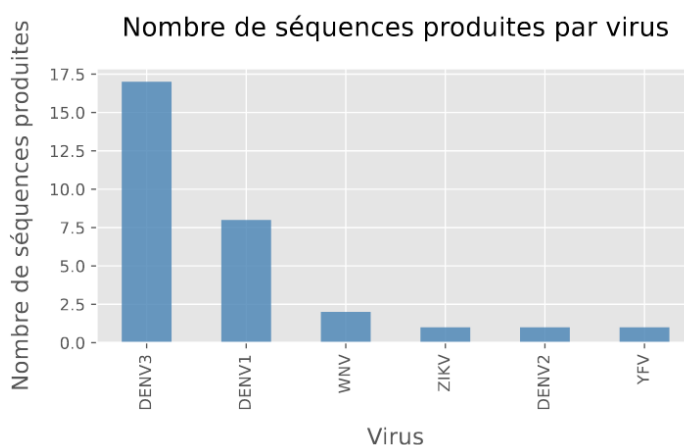
## 2.6 Activités de séquençage

### CNR-LC-IRBA

En 2022, le CNR a généré 30 séquences virales (Figure 6). Notamment :

- 2 souches de West Nile : cas de la Seyne sur Mer et un cas importé au retour d'Italie.
- 1 souche de Zika : cas d'atteinte fœtale au retour de Thaïlande
- 1 souche de virus de la fièvre jaune : souche isolée de la moelle osseuse d'un patient ayant présenté une défaillance multiviscérale 6 jours après une vaccination anti-amarile.

Toutes les séquences produites sont ou seront bientôt déposés dans la base de donnée Genbank.



**Figure 6.** Séquences produites par le CNR en 2022.

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

<input type="checkbox"/> <b>NON</b>	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> <b>OUI</b>	<b>Le CNR à accès à une plateforme interne de séquençage (Unité des Virus Emergents)</b> <b>IonTorrent S5XL, Illumina, et Minlon</b>

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

<input type="checkbox"/> <b>NON</b>	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> <b>OUI</b>	<b>En interne</b> (1) Assemblage de séquences (pipeline « maison », CLC genomics Workbench version 20, geneious) (2) Analyse phylogénétique (Maximum-likelihood - IQtree, Bayésienne – BEAST) (3) Génotypage (pipeline « maison »).  Première ligne : assemblage, génotypage Première ou seconde ligne : analyse phylogénétique poussée (phylogénétique / phylogéographique)

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

<input type="checkbox"/> <b>NON</b>	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> <b>OUI</b>	<b>Dans l'investigation autour des cas autochtones, le CNR tente systématiquement l'isolement viral et le séquençage lorsque la charge virale est suffisamment élevée</b>

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

(1) Dans l'investigation autour des cas autochtones, le CNR tente systématiquement l'isolement viral et le séquençage lorsque la charge virale le permet afin d'identifier ou confirmer les liens entre (et au sein de) foyers, ainsi que la source d'introduction probable. (première ligne)

(2) Les analyses phylogéographiques peuvent également servir à ré-évaluer les risques de transmission arbovirales pour des cas importés de zones pour lesquelles la situation épidémiologique vis-à-vis d'un arbovirus donné est limitée voir manquante. (première ligne)

(3) Des analyses de métagénomique (donc agnostiques vis à vis du pathogène) sont prévues pour les cas à la présentation clinique évoquant une arbovirose mais pour lesquelles les techniques de diagnostic classiques (biologie moléculaire/sérologie) ne permettent pas l'identification du pathogène. Cette option n'est utilisée que pour les cas dans lesquels le prélèvement est assez précoce et un isolement a été réalisé (condition les plus favorables pour un succès de l'approche métagénomique). (première ligne quand pertinent)

(4) Le séquençage est également utilisé de façon systématique pour la confirmation de cas d'accidents vaccinaux.

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

11 séquences ont été produites à partir des cas autochtones 2022

### Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Sérotypage systématique des souches dengues (autochtones ou importées de l'étranger et des territoires français ultramarins).

A noter que toutes les échantillons positifs en PCR reçus en 2022 et issus des épidémies dans les DFA et LR sont en cours de séquençage rétrospectif à ce jour.

L'objectif du CNR est le séquençage de 100% des prélèvements positifs en PCR à partir de la mandature 2023-2027

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

Dans les bases de données fermées : **NCBI**

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : **ENA en systématique à partir de la fin de l'année 2023.**

## CNR-LA-IPG

En 2022 et en l'absence de situation épidémique pour les arbovirus, les activités de séquençages ont été de 2 types :

- Activités de séquençage complet (NGS-MinION) : en vue de la caractérisation phylogénétique des virus Mayaro circulants en Guyane et en particulier aux virus Mayaro ayant circulé sur l'île de Cayenne en 2022, une technique de séquençage NGS sur MinION a été développée puis appliquée au séquençage complet (> 11300b) de **13 virus Mayaro** détectés respectivement en 2020 (n=8), 2004 (n=1), 2003 (n=2), 2000 (n=1) et 1999 (n=1).
- Activité de séquençage partiel (Sanger) : suite à la mise en place d'une nouvelle technique de détection d'Orthobunyavirus (OBV) par RT-qPCR, et à la détection de premiers OBV fin 2022, un début de caractérisation des 4 virus détectés a été réalisé par séquençage du segment S. Le segment S de 4 autres OBV détenus dans la collection de l'IPG ont également été séquencés (isolats de 2002 (n=2), 2001 (n=1) et 1997 (n=1)).  
Les séquences des **segments S de 8 OBV** (~ 800 à 850 b) ont ainsi été obtenus, tous apparentés au virus Oriboca (renommé d'après l'ICTV 2022 : *Orthobunyavirus oribocaense*)

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

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<b>Le CNR-LA IPG a eu accès à 2 plateformes de séquençage : plateforme interne CNR-LA-IPG et plateforme externe : Société AZENTA (Allemagne).</b> <b>Les technologies / matériels utilisés ont été respectivement :</b> - pour le plateforme interne : séquenceur Minion, technologie Oxford Nanopore - pour la société AZENTA : technologie Sanger.

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

Analyses conduites : analyses phylogénétiques et analyses de diversité virale  
Les séquençages ont été réalisés sur des échantillons primaires détectés positifs en qRT-PCR ou sur souches virales isolées en culture cellulaire

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<b>Le CNR-LA IPG a accès en interne à une expertise bioinformatique</b> Outils utilisés pour l'analyse des séquences : - outil commercial : CLC Workbench 22.0.2 - outil open source : ARTIC, nanopolish, Guppyplex, minimap2, BLAST, SPADES, VELVET, etc.. - et outils maison pour analyse des données de métagénomique

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

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<b>Les activités de séquençage menées en 2022 visaient à investiguer des arbovirus détectés dans le cadre de la surveillance :</b> - Investigation d'une circulation inhabituelle de virus Mayaro dans l'île de Cayenne détectée en 2020 - Investigation d'Orthobunyavirus détectés fin 2022

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

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

Non applicable : pas d'épidémie d'arbovirus en 2022

### Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Au total, en 2022 :

- Les séquences complètes de 13 virus Mayaro ont été obtenues
- Les segments S de 8 Orthobunyavirus ont été séquencés

Aucune sélection n'a été appliquée :

- Pour les virus Mayaro, les 13 séquences obtenues sont venues compléter le séquençage des 23 souches de virus Mayaro (isolat ou prélèvements primaires avec Ct inférieur à 30) disponibles au laboratoire (souches de 1996 à 2020).
- Pour les virus OBV, le segment S de l'ensemble des OBV du sérogroupe C disponibles au laboratoire ont été séquencés (4 OBV détectés fin 2022 et 4 isolats identifiés dans la collection du laboratoire (obtenus entre 1997 à 2002))

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

Dans les bases de données fermées : NA

Dans des bases de données publiques : Génomes assemblés et séquences brutes (fastQ files) déposés sur NCBI.

---

**CNR-LA-LR**

---

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

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<b>Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s)</b>  Le CNR LR utilise la plateforme de séquençage du CHU de la Réunion. Cette plateforme a été mise en place pour le suivi épidémiologique génomique du virus SARS-COV-2 pour la Réunion et Mayotte. Cette plateforme est en cours de mutualisation avec l'ensemble des besoins des laboratoires. <b>Technologie/matériel de la (des) plateforme(s) de séquençage auquel le CNR a accès</b>
	<b>CNR-LR :La technologie utilisée par cette plateforme de séquençage est la technologie d'Oxford Nanopore.</b> Des robots pipetteurs et des extracteurs permettent de normaliser les concentrations de nucléotides et de préparer les librairies. Un protocole maison permettant le séquençage multiplexe par amplicon de 1200 bases du génome viral complet des virus de la Dengue et du Chikungunya, basé sur la méthode de séquençage du réseau Artic pour le séquençage de virus à ARN, a été mise au point par le CNR LR. Les librairies sont préparées avec le kit Rapid Barcoding d'Oxford Nanopore et séquencées sur les séquenceurs GridION et MinION.

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

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<b>Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s)</b>  Le CNR LR a recruté un bio-informaticien en 2022 (0,2ETP) et fait appel à son ingénieur pour réaliser ses <b>analyses bio-informatiques</b> Outils utilisés pour l'analyse des séquences : commercial (BioNumerics par exemple), outil open source, outil maison ...
	<b>CNR-LR :Le traitement des données de séquençage (Fast5 et Fastq) est réalisé en utilisant les outils bio-informatiques d'Oxford Nanopore (Guppy, Epi2me Labs, Epi2me) et le pipeline open source field bioinformatics du consortium Artic ( <a href="https://github.com/artic-network/fieldbioinformatics">https://github.com/artic-network/fieldbioinformatics</a>). Les séquences sont ensuite analysées dans l'outil Geneious Prime en réalisant des alignements multiples (MAFFT) et des arbres phylogénétiques (PhyML et FastTree). Le génotypage et l'analyse des séquences d'arbovirus peuvent aussi être réalisés en utilisant les outils en ligne de la NCBI (Blast) et l'outil Genome Detective (<a href="http://genomedetective.com">genomedetective.com</a>).</b>

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

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	<p>Si OUI, précisez pour quelles activités. Indiquez s'il s'agit d'investigations d'épidémies ou d'investigations intervenues dans le cadre de la surveillance.</p> <p>Le CNR LR fait appel au séquençage depuis 2023 pour l'investigation d'épidémies et dans le cadre de la surveillance en collaboration avec SPF Réunion.</p>

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

Indiquez ici les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (précisez lesquelles) .

CNR-LR :Les séquençages et les analyses bio-informatiques sont réalisés en complément des RTPCR de détection et de serotypage. Les analyses bio-informatiques et phylogénétiques conduites permettent de déterminer le génotype des virus et de comparer les séquences détectées aux séquences ayant déjà circulé sur l'île et dans la zone Océan-Indien et aux séquences présentes dans les bases de donnée internationales telles que la GenBank de NCBI.

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

Précisez ici le nombre de souches séquencées dans l'année

### Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Précisez ici le nombre de souches séquencées dans l'année :

**En 2022, le CNR LR a réalisé le séquençage de :**  
**-86 échantillons de DENV1 ayant circulé à la Réunion au cours de l'année 2022**  
**-32 échantillons de DENV1 en provenance de l'île de Mayotte datant de 2019.**  
**-796 souches et prélèvements présents dans sa biothèque historique depuis 2012**

Modalités de sélection des souches pour séquençage : aucune sélection (séquençage de toutes les souches reçues), échantillonnage (préciser son type), études répétées, ...

**En 2022 , période non épidémique, pour le moment, 86 souches ont été séquencées .**  
**Concernant la collection historique qui comprenait plus de 4 000 échantillons, une sélection de 796 souches et prélèvements à séquencer a été réalisée en collaboration avec SPF Réunion.**

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

Dans les bases de données fermées : Précisez

**Les séquences des génomes brutes et assemblées sont actuellement conservées dans la base de données du CNR LR. Nous sommes toujours dans l'attente d'un archivage sécurisé de nos données que doit réaliser le Direction du système informatique du CHU.**

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

**Les séquences assemblées des génomes du virus de la Dengue du CNR LR ont été déposées dans la base de données publique NCBI Genbank, en accès confidentiel dans l'attente de la publication de nos résultats dans un journal scientifique. Elles seront rendues publiques dès l'acceptation de la publication.**

## 2.7 Partage de séquences produites par les CNR

---

### CNR-LC-IRBA

---

Les prélèvements (sérum ou plasma) sont envoyés au CNR par les LABM et certains CHU. En 2022, 10 séquences ont été déposées dans Genbank, dont 7 associées à une publication concernant la dengue en Afrique (<https://doi.org/10.3389/fviro.2023.1124848>). Les séquences des cas précités de Zika et fièvre jaune seront libérées lors de la publication des articles afférents. Le CNR-LC-IRBA procède actuellement à un séquençage rétrospectif de sa banque d'échantillon qui donnera lieu à un partage de données sur NCBI.

---

### CNR-LA-IPG

---

Les séquences complètes (virus Mayaro) sont en cours de dépôt sur NCBI, les prélèvements primaires à partir desquels ces souches ont été identifiées / voire isolées provenaient en majorité de laboratoires de biologie médicale de ville (Ile de Cayenne).

Pour les séquences partielles (segments S des Orthobunyavirus), la réalisation d'un séquençage complet est prévu avant le dépôt de séquences.

---

### CNR-LA-LR

---

Le CNR LR a soumis ses données de séquençage récemment acquises au niveau international dans la base de donnée GenBank de la NCBI. Ses séquences sont issues d'isolat clinique et de prélèvement (sérum ou plasma), originaire du CHU de la Réunion et de Mayotte et des laboratoires de Biologie Médicale de la Réunion.

Les séquences ont été déposé en accès confidentiel dans la base de donnée GenBank de la NCBI. Celles-ci seront rendu publique dès la publication de nos résultats.



## 3. Activités de surveillance

---

En métropole, l'année 2022 a été exceptionnelle sur le plan du nombre de foyers et du nombre de cas autochtones. Il s'agissait uniquement du virus de la dengue. Cette année est également marquante par l'augmentation du nombre de cas importés. Une cartographie des analyses réalisées et des moyens en rapports auprès du réseau de laboratoire public et privé de métropole a été réalisé.

Dans les DFA, l'année 2022 a été très calme en matière de circulation des arbovirus avec de rares cas confirmés de dengue tandis qu'aucune détection de virus Chikungunya ni Zika n'a été mise en évidence.

Cette année aura été l'occasion de développer un réseau visant la surveillance des autres arbovirus circulant en Guyane et de renforcer les outils de détection disponibles, permettant en fin d'année, de premières détections d'Orthobunyavirus du sérotype C jusqu'à présent non surveillés.

A La Réunion, on note en 2022 une réduction du nombre de cas de Dengue.

### 3.1 Description du réseau de partenaires

---

#### *CNR-LC-IRBA*

---

Le CNR Arbovirus-IRBA a développé avec Santé Publique France un réseau de laboratoires participant à la surveillance annuelle et regroupant les LABM Eurofins Biomnis et CERBA, ainsi que 14 laboratoires hospitaliers répartis sur tout le territoire français et permettant ainsi une bonne couverture globale (Figure 7). Le CNR Arbovirus-IRBA et Santé publique France organise une réunion annuelle avec le réseau de laboratoire, réunion permettant de nombreux échanges scientifiques et stratégiques. Cette réunion a été réalisée en visio le 05/04/22.



**Figure 7.** 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. 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. D'une manière générale, les laboratoires du réseau font le diagnostic sérologique et moléculaire de la dengue, du chikungunya, du Zika, du West Nile, et parfois du virus de l'encéphalite à tique.

---

### CNR-LA-IPG

---

Dans les DFA (Départements Français des Amériques), le CNR-LA IPG participe à la surveillance des arboviroses assurée par les cellules Antilles et Guyane de SpF 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).

## CENTRE HOSPITALIER DE CAYENNE 16 Centres de santé



**Figure 8.** Répartition géographique des structures de santé partenaires de la surveillance des arbovirus en Guyane : Centres Hospitaliers (Cayenne (CHC), Kourou (CHK) et Saint Laurent du Maroni (CHOG)) et CDPS.

Les Laboratoires privés participant à la surveillance sont localisés respectivement sur l'île de Cayenne (Cayenne, Rémire-Montjoly, Matoury) à Kourou et à Saint Laurent du Maroni

Le CNR-LA-IPG, participe également 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.

### **Cette surveillance porte en priorité sur la circulation des virus Dengue, Chikungunya et Zika.**

Parallèlement à cette surveillance, le CNR-LA IPG réalise un échantillonnage de prélèvements d'intérêt (clinique évocatrice et prélèvement précoce DDS<5j) parmi les prélèvements reçus pour diagnostic et/ou expertise arbovirus) pour une recherche d'autres arbovirus par RT-qPCR cf chapitre 3.2 (Fièvre Jaune, Mayaro, Oropouche, JEV, WN, ESL, Ilheus, et plus récemment Orthobunyavirus du séro groupe C et Phlebovirus Bujaru-like).

Face à la forte diminution du nombre de prélèvements reçus au CNR-LA-IPG suite à l'introduction à la nomenclature des actes de biologie médicale des diagnostics moléculaires des virus Dengue, Chikungunya et Zika le CNR-LA IPG s'est engagé, au cours de l'année 2022, sous la coordination de l'ARS Guyane, et en collaboration avec les mêmes laboratoires privés et hospitaliers, dans la mise en place d'un réseau de surveillance biologique spécifique pour ces autres arboviroses. Après une longue phase de mise en place, cette surveillance a officiellement démarré en septembre 2022. Pour l'instant, l'adhésion à cette surveillance, qui implique l'envoi d'une fiche de renseignements cliniques associée au prélèvement, a été meilleure pour les laboratoires privés que pour les laboratoires hospitaliers et les CDPS. La surveillance a donc principalement porté sur l'île de Cayenne, tandis

que le reste du territoire, avec notamment les régions de l'intérieur qui bien que moins peuplées sont susceptibles d'être exposées à différents arbovirus endémiques, ou encore les cas hospitalisés sont encore peu représentés dans cette surveillance.

---

### CNR-LA-LR

---

Les partenaires sont

- à la Réunion : les laboratoires privés de l'île : Bioaustral, Cerballiance, LABM St-Benoit, Reunilab/Inovie, et laboratoire public du CHOR (hôpital appartenant au GHT). La couverture du réseau à la Réunion est donc totale.

- à Mayotte, le laboratoire du CHM ce qui permet de couvrir une 2<sup>e</sup> zone sur l'Océan Indien

Sur le plan régional, nous faisons partie du réseau SEGA (Réseau de surveillance des épidémies et de gestion des alertes) qui réunit Madagascar, Maurice, Seychelles, les Comores et la Réunion.

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

---

### CNR-LC-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. En plus de la déclaration obligatoire de ces maladies, un signalement des cas importés est transmis par le CNR-LC-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 (1<sup>er</sup> mai – 30 novembre), le CNR-LC-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 Voozано de SPF (enquêtes de suivi des cas Voozarbo).

En 2022, le CNR Arbovirus-IRBA a reçu 3126 prélèvements dans le cadre de la surveillance renforcée, pour les départements d'implantation du moustique *Aedes albopictus*.

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

La surveillance du virus West Nile s'étend toute l'année sur la base de la déclaration obligatoire de la maladie et de la recherche systématique par le CNR. Les échantillons de LCR clair provenant de patients hospitalisés et présentant un état fébrile avec manifestations neurologiques sans étiologie identifiée sont transmis au CNR-LC-IRBA pour analyse. Le CNR informe l'ARS et Santé Publique France en cas de résultats positifs via le portail Voozано et communication directe.

Par ailleurs le CNR-LC-IRBA effectue tout au long de l'année la surveillance des infections par le virus West Nile. La surveillance des autres arboviroses d'intérêt se fait au fil de l'eau et toujours en lien avec les ARS et CIRE en région pour la détection de cas et leur suivi.

La participation du CNR-LC-IRBA dans la surveillance et l'expertise des cas autochtones est présenté dans le chapitre 2.5 Activité d'expertise

### CNR-LA-IPG

Après les épidémies de dengue observées dans les DFA en 2020-2021, avec comme sérotypes majoritaires, les DENV 3 pour la Martinique, DENV 2 pour la Guadeloupe et DENV-1 pour Saint-Barthélemy, Saint Martin et Guyane, l'année 2022 a été calme en matière de circulation des virus Dengue avec uniquement des cas sporadiques. Une reprise de circulation de DENV-2 a toutefois été notée en Guadeloupe en fin d'année justifiant un passage en phase 2 niveau 1 du PSAGE (foyers isolés) (cf Points Epidémiologique Régional Dengue SpF – Antilles du 15/12/2022 et - Guyane du 16/12/2022).

En parallèle aucune détection de virus Chikungunya ou Zika n'a été observée.

L'ensemble des résultats des analyses sérologiques et moléculaires réalisées au CNR-LA-IPG est présenté dans les tableaux ci-dessous.

**Tableau 11.** Prélèvements reçus en 2022 en fonction de leur origine avec bilan des analyses moléculaires réalisées, et les résultats positifs obtenus

ORIGINE	Total plvts reçus en 2022	Nb PCR testés en PCR	Nb PCR DEN	PCR DEN POS	Nb PCR CHIK	Nb PCR ZIKA	Nb PCR TON	Nb PCR YFV	Nb PCR MAY et ORO	Nb PCR Ilheus et SLE	Nb PCR JEV et WN	Nb PCR Bujaru-like	Nb PCR OBV	PCR OBV POS
<b>Guyane</b>	<b>1820</b>	<b>859</b>	<b>791</b>	<b>2</b>	<b>272</b>	<b>228</b>	<b>17</b>	<b>173</b>	<b>438</b>	<b>384</b>	<b>370</b>	<b>383</b>	<b>320</b>	<b>4</b>
Centres de Santé	67	17	12		9	8		5	16	9	9	9	8	
CH Cayenne	903	159	124		104	96	5	78	125	107	99	106	101	1
CH Saint Laurent	148	44	26		27	27	7	8	30	20	20	20	13	
CMIA	4	3	2		2	2		2	3	2	2	2	2	
Labo Kourou	3	3	1	1 DEN3	2		1		2		1	1	1	
Labo Saint Laurent	5	5	3		3	1			5	1	1	1		
Labos Ile de Cayenne	691	628	623	1 DEN2	125	94	4	80	257	245	238	244	195	3
<b>Martinique</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>											
Laboratoires Biosanté	15	15	15											
<b>Total</b>	<b>1836</b>	<b>874</b>	<b>806</b>	<b>2</b>	<b>272</b>	<b>228</b>	<b>17</b>	<b>173</b>	<b>438</b>	<b>384</b>	<b>370</b>	<b>383</b>	<b>320</b>	<b>4</b>

Au total, deux cas d'infection dengue ont été confirmés en Guyane pour toute l'année 2022 : un cas de Dengue de sérotype 2 a été détecté en octobre 2022 à Cayenne chez un patient de 46 ans de retour de voyage au Suriname tandis qu'un cas de Dengue de sérotype 3 a été mis en évidence à Kourou en décembre 2022 chez une patiente de 25 ans n'ayant pas voyagé (cas autochtone).

A ces 2 détections, s'ajoutent les détections de 4 infections par un Orthobunyavirus :

- Cas n°1 fin septembre 2022 : homme de 50 ans ayant présenté un syndrome dengue-like au retour d'un séjour en forêt de 5 jours (pour inventaire faunistique) : lieu de contamination présumé, route de l'est à 170 kms de la ville de Cayenne. Un second prélèvement réalisé à J19 après le début des symptômes a permis de mettre en évidence une séroconversion avec un ELISA maison Oriboca.
- Cas n°2 en octobre 2022 : homme de 31 ans ayant présenté un syndrome dengue-like 4 jours après le retour d'un WE en forêt sur la commune de Roura. Un second prélèvement réalisé à J28 après le début des symptômes a permis de mettre en évidence une séroconversion avec un ELISA maison Oriboca (Neg (IgM et IgG) à J1 et pos (IgM pos/IgG Pos faible) à J28).

A noter sur les 3 autres participants à ce WE, 2 ont également développé un syndrome dengue-like : Prélevés à J18 du début des symptômes, des IgM OBV ont été identifiés pour l'un d'entre eux (avec IgG Douteux), en faveur également d'une infection récente à OBV.

- Cas n°3 en décembre 2022 : homme de 32 ans ayant présenté un syndrome dengue-like au retour d'un inventaire en soirée (16h-22h) dans la réserve naturelle du Grand Matoury à proximité de Cayenne.
- Cas n°4 en décembre 2022 : homme de 39 ans hospitalisé à l'hôpital de Cayenne pour un syndrome fébrile (fièvre, céphalées, arthralgies, douleurs abdominales) avec défaillance hémodynamique sans point d'appel infectieux retrouvé.

Les virus correspondants ont été isolés pour les 2 premiers cas.

Pour ces 4 cas, la séquence des segments S a été obtenue : tous présentent des séquences Oriboca like avec pourcentages d'identité de séquence variant, entre eux, de 91 et 99%. La poursuite de la caractérisation de ces virus est en cours avec la mise au point d'un séquençage complet (NGS - sur MinION).

**Tableau 12.** Prélèvements reçus en 2022 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques (hors Zika) réalisées, et les résultats obtenus

ORIGINE	Total plvts reçus en 2022	Total plvts testés en sérologie	Nb testés IgM "panel arbo"	Résultats sérologies IgM "panel arbo"									Nb testés IgG Chik	IgG Chik	
				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
<b>Guyane</b>	<b>1820</b>	<b>1088</b>	<b>939</b>	<b>871</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>2</b>	<b>25</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>939</b>	<b>804</b>	<b>135</b>
Centres de Santé	67	59	57	51	2			2	2				57	53	4
CH Cayenne	903	819	768	718	11	12	2	17	7			1	768	653	115
CH Saint Laurent	148	121	49	45	1	1		2					49	39	10
CMIA	4	3	3	3									3	3	
Labo Kourou	3	2	2	2									2	2	
Labo Saint Laurent	5	1	1	1									1	1	
Labos Ile de Cayenne	691	83	59	51		3		4			1		59	53	6
<b>Martinique</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>									<b>0</b>		
Laboratoires BS	15	15	15	15									0		
<b>Total</b>	<b>1836</b>	<b>1103</b>	<b>954</b>	<b>886</b>	<b>14</b>	<b>16</b>	<b>2</b>	<b>25</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>939</b>	<b>804</b>	<b>135</b>

DEN = virus Dengue, YF = virus de la Fièvre Jaune, Flavi = DEN + YF, TON= virus Tonate, MAY= virus Mayaro, Chik = virus Chikungunya, alpha\* = TON + MAY, Flavi + alpha\* = DEN + MAY

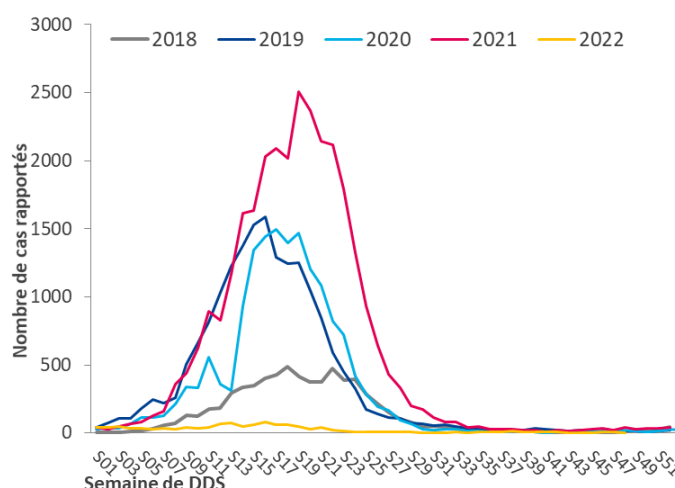
**Tableau 13.** Prélèvements reçus en 2022 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques Zika réalisées, et les résultats obtenus

ORIGINE	Total plvts reçus en 2022	Sérologie Zika		
		Nbre Plvts testés	% IgM Pos	% IgG Pos
<b>Guyane</b>	<b>1820</b>	<b>412</b>	<b>2,7%</b>	<b>41,7%</b>
Centres de Santé	67	22	0%	50,0%
CH Cayenne	903	236	3,8%	45,3%
CH Saint Laurent	148	105	1,9%	36,2%
CMIA	4	2	0%	0%
Labo Kourou	3	0		
Labo Saint Laurent	5	0		
Labos Ile de Cayenne	691	47	0%	34,0%
<b>Martinique</b>	<b>15</b>	<b>0</b>		
Laboratoires BS	15	0		
<b>Total</b>	<b>1836</b>	<b>412</b>	<b>2,7%</b>	<b>41,7%</b>

De façon générale, la faible proportion de prélèvements présentant des IgM positives parmi les prélèvements testés en 2022 est cohérente avec une année sans circulation significative des arbovirus recherchés.

### CNR-LA-LR

Il n'y a pas eu d'épidémie de Dengue en 2022. Sur l'année, 1183 cas ont été confirmés à la Réunion, avec la détection d'un sérotype unique, le DENV1. La circulation du virus a été modérée au cours de l'été austral et est restée à bas bruit tout au long de l'hiver. Le Sud de la Réunion a été la région la plus touchée.



**Figure 9 : Distribution des cas de dengue par semaine de DDS, La Réunion (S01/2018 à S48/2022).** Point épidémiologique Dengue Régional 2022, SPF Réunion.

**Tableau 14 : Bilan des données de surveillance de la Dengue à la Réunion en 2022.** Données du point épidémiologique Dengue Régional 2022, SPF Réunion.

	<b>2022 (S48)</b>	<b>2021</b>
Cas confirmés	1 183	29 577
Saison épidémique (pic)	Absence d'épidémie	S8-S26 (S19)
Région la plus touchée	Sud	Ouest
Passages aux urgences	190	4 077
Hospitalisations >24h	61	1 185
dont formes sévères	24%	27%
Décès	3	33

### 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

---

#### CNR-LC-IRBA

---

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France et les antennes régionales de SpF: 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.

Le CNR est également membre du réseau français multidisciplinaire Arbo-France, participe aux enquêtes du réseau européen EVD Labnet, et partage ses ressources biologiques avec la plateforme European Virus Archive – GLOBAL.

Le CNR collabore également avec l'EFS auquel il a fourni des gammes virales inactivées (West-Nile et Usutu) pour l'évaluation de ses automates de DGV.

---

#### CNR-LA-IPG

---

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France et ses cellules régionales 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 (cf chapitre 4 alerte).

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 Santé publique France en collaboration avec les différents partenaires impliqués. Ils sont disponibles sur <http://www.invs.sante.fr/surveillance/dengue/peh.html> et permettent d'assurer une rétro-information auprès des différents professionnels de santé des départements, des ARS, de SpF et de la DGS, tout en faisant le point sur la situation épidémiologique du moment.

---

#### CNR-LA-LR

---

Le laboratoire collabore au quotidien avec

\*Santé publique France via :

-un signalement des cas positifs en pcr ou sérologie et des résultats de typage par transmission cryptée des données sur la plateforme Geolav



-échanges réguliers plurimensuels sur le suivi des cas expertisés, résultats de séquençage, envoi de données (statistiques mensuelles)

\*le CNR Arbovirus de Marseille

-échanges sur méthodes de référence

-expertise de cas

-vérification de séquençage sur Illumina...

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

---

#### CNR-LC-IRBA

---

Le CNR est mis à contribution par l'EFS pour la qualification de poche lorsque le médecin de l'EFS considère qu'il existe un risque (voyage, symptomatologie dans les jours précédents...). A ce titre, le CNR a reçu en 2022 un total de 12 échantillons en provenance de l'EFS. Aucune infection récente n'a été retrouvée.

Le CNR-LC-IRBA a également reçu et traité des microtubes envoyés par l'EFS, issus de donneurs résidents à proximité des cas autochtones de La Salvetat Saint Gilles (n=45 microtubes), Toulouse (n=16 microtubes), et Montauban (n=1).

En 2022, l'EFS a également mis le CNR à contribution pour le diagnostic rétrospectif de dons en région touchée par des cas de West Nile. Nous avons ainsi reçu et analysé 38 échantillons. Aucun ne s'est avéré positif.

---

#### CNR-LA-IPG

---

En 2022, dans un contexte de période inter-épidémique pour la dengue en Martinique, 15 diagnostics de dengue ont été rapportés de janvier à octobre 2022, sur la base de résultats de TROD NS1 par un seul groupement de laboratoires.

SpF Antilles, a fait parvenir au CNR-LA-IPG, l'ensemble des prélèvements correspondants pour confirmation et identification des sérotypes circulants. Testés par différentes techniques de RT-PCR (RT-qPCR de détection et de typage et RT-PCR nested Lanciotti) tous ces prélèvements sont restés négatifs. Testés également en sérologie, les résultats ont là encore été trouvés négatifs, malgré des délais par rapport au début des symptômes parfois supérieurs à 10 jours. Une analyse conjointe avec SpF Antilles, le groupement de laboratoires concerné et le CNR, sur l'ensemble ces résultats a conclu à un défaut de spécificité des résultats, possiblement en rapport avec un problème de délai d'acheminement et de conservation des kits. Cela a également été l'occasion de revoir les recommandations en matière d'utilisation et d'interprétation des TROD.

---

#### CNR-LA-LR

---

*Pas de nouveaux éléments pour 2022.*

## 4. Alertes

---

---

### CNR-LC-IRBA

---

Les épisodes d'alertes Dengue, West-Nile, fièvre jaune sont traités dans la section Expertise. Aucune alerte Chikungunya ou Zika n'a été enregistrée. Le CNR-LC-IRBA alerte également SpF en cas d'infection par le virus TBEV.

Le CNR a participé aux réunions concernant l'évaluation de la situation autour des foyers de dengue autochtones (N=5) et des cas de West-Nile (N=3). Les demandes émanaient des ARS, du SECHPRO et de la DGS. Les échanges ont été quotidiens par téléphone et courriel avec l'ARS PACA, les cas de dengue ayant été particulièrement nombreux dans la région en 2022. L'expertise apportée par le CNR concernait les limites d'interprétation des résultats, la pertinence des nouveaux prélèvements à réaliser et des analyses requises. Les éléments apportés par le CNR ont notamment permis de distinguer très rapidement le foyer de dengue de Saint Laurent du Var de celui de Saint-Jeannet, de reclasser un cas suspect de dengue autochtone en infection par le virus Usutu, et d'aider la prise de décision concernant les mesure de sécurisation de des produits issus du corps humain. HAS vaccin dengue n=1.

---

### CNR-LA-IPG

---

Le CNR-LA-IPG a effectué un signalement, adressé par e-mail doublé d'un appel téléphonique à l'ARS (ars973-alerte@ars.sante.fr) et SPF Guyane (guyane@santepubliquefrance.fr) pour différents évènements inhabituels :

**Les rares confirmations (PCR positives) d'infection par un arbovirus à potentiel épidémique en période interépidémique :**

Cela a été le cas pour les deux détections de cas d'infection Dengue : un premier cas de Dengue de sérotype 2 a été détecté en octobre 2022 à Cayenne (cas importé) et un second cas de Dengue de sérotype 3 a été mis en évidence à Kourou en décembre 2022 (cas autochtone).

**Les détections d'infection par des Orthobunyavirus du séro groupe C (virus jusqu'à présent non surveillés) :**

Suite au développement d'une nouvelle technique de RT-qPCR visant la détection combinée de différents Orthobunyavirus du séro groupe C, mise en évidence de 4 cas non épidémiologiquement liés d'Orthobunyavirus entre le 30/09/2022 et le 30/11/2022 (cf chapitre 3). Chacun de ces cas a fait l'objet d'un signalement individuel.

---

### CNR-LA-LR

---

Expertise à propos d'un cas de réactivation de dengue chez une patiente immunodéprimée 2 ans après sa primo infection.

Expertise d'un cas de dengue chez un receveur de rein de métropole ayant reçu un greffon d'un donneur réunionnais

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

---

### 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

---

#### CNR-LC-IRBA

---

Le CNR-LC-IRBA dispose d'un site internet ([www.cnr-arbovirus.fr](http://www.cnr-arbovirus.fr)) qui a été visité plus de 51 000 fois par environ 17 000 personnes en 2022. Ce site met à disposition des professionnels de santé le manuel de prélèvement, la fiche de renseignement, les modalités pratiques d'envoi, une aide pratique pour la récupération des comptes rendu ... Il propose aussi les fiches de Déclaration Obligatoire. Une fiche de réclamation est à disposition des praticiens. Une page d'information est également disponible à destination des patients dans le but de leur expliquer le but du travail du CNR, la possibilité et comment de d'accéder, modifier et supprimer les données les concernant.

Le CNR est toujours à la disposition des professionnels de santé pour répondre à tous leurs questionnements. Nous évaluons l'activité de prestations de conseils téléphonique à environ 2h par jour, par courriel et par téléphone.

Pour des questions plus médicales un infectiologue référent prend le relais : Dr Carole Eldin, infectiologue à l'IHU, ou Dr Denis Malvy, CHU de Bordeaux.

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

---

#### CNR-LA-IPG

---

L'Institut Pasteur de la Guyane dispose d'un site internet : [www.pasteur-cayenne.fr](http://www.pasteur-cayenne.fr) régulièrement actualisé sur lequel sont fournies les coordonnées du CNR-LA IPG (numéros de téléphone et adresses e-mail avec notamment une adresse générique [cnrarbo@pasteur-cayenne.fr](mailto:cnrarbo@pasteur-cayenne.fr) pour toute demande de renseignement). Le catalogue des analyses y est également mis en ligne ainsi que les fiches de renseignements à compléter pour toute demande d'analyse arbovirus.

Le CNR-LA IPG est sollicité, pour des prestations de conseil et demandes d'informations, par des professionnels de santé (médecins hospitaliers et libéraux, biologistes, ainsi que sages-femmes ou encore infirmiers). Le rythme de ces sollicitations est extrêmement variable en fonction de la situation épidémiologique mais reste à minima hebdomadaire. Le CNR-LA IPG participe également régulièrement à des réunions d'information destinées aux professionnels de Santé (en 2022, par exemple participation sur demande au groupe contact Ville -Hopital (ARS-URPS), Veille et expertise sanitaire en Guyane – septembre 2022).

---

#### CNR-LA-LR

---

Afin de mettre en avant l'expertise CNR du CHU Réunion, les contacts vont être mis spécifiquement sur le manuel de prélèvement, mis à jour régulièrement par ailleurs. De même, un encart spécifique sera créé sur la page d'accueil <https://lbm-chureunion.manuelprelevement.fr/>

La refonte du site internet du CHU en cours prévoit également un affichage spécifique pour le CNR

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 Point épidémiologique régional SPF bimensuel.

Nous communiquons et échangeons en permanence avec SPF et les autres laboratoires privés et publique sur les cas positifs ou douteux (notamment en sérologie et pour le sérotypage) pour le transfert des échantillons au CNR-LR. Du 20 août au 31 décembre 2022, nous avons reçu 36 mails.

## 5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

---

### CNR-LC-IRBA

---

En 2022, la responsable adjointe du CNR Arbovirus-IRBA, G. Grard a apporté son expertise auprès des différentes instances impliquées dans la santé publique, en suppléance de la directrice.

- Expertise auprès du HCSP

Le CNR a participé à la mise à jour des recommandations concernant la conduite à tenir en PMA devant le risque d'infection par le virus Zika.

- Participation au SECHPRO

Réunion d'aide à la décision devant l'occurrence de cas autochtones de dengue et West-Nile

- Risque d'émergence du virus TBE

Le CNR participe au groupe de travail de l'ANSES ayant pour but d'établir l'état de l'art sur la TBE et son risque d'émergence en métropole.

- Vaccination contre le virus de la dengue

Le CNR a été sollicité par la HAS pour une réunion concernant l'utilisation du vaccin DengVaxia

- Expertise auprès de l'ANSM

Le CNR a été sollicité par l'ANSM pour (i) participer à l'établissement des spécifications communes (CS) attendues dans le cadre de l'entrée en application du règlement 2017/746 sur les dispositifs médicaux de diagnostic in-vitro et (ii) l'organisation d'un contrôle national de qualité pour le diagnostic des arbovirus. Ce travail se poursuit en 2023.

---

### CNR-LA-IPG

---

Le CNR-LA IPG apporte son expertise aux instances de santé publique régionales, nationales voire internationales :

- Activités de conseil et expertise auprès des ARS Martinique, Guadeloupe, Guyane, et des cellules Antilles et Guyane de Santé publique France
- Membre du Comité maladies infectieuses émergentes (CMIE) en Guyane
- Membre du réseau RELDA (Arbovirus Diagnosis laboratory Network of the Americas) de la PAHO
- Membre du groupe de travail Arbo-France (depuis 2019)
- Contribution au rapport sur l'évaluation du risque Mayaro/Oropouche en Guyane et dans les Antilles - 2021/2022 (Saisine DGS)

Participation à l'Atelier sur le programme commun de veille sanitaire transfrontalière Guyane (France) – Etat fédéral d'Amapa (Brésil) – 02/02/2022

---

#### CNR-LA-LR

---

Participation à l'atelier du Projet Régional de Santé 2023-2033 de l'ARS « One health » les 17 avril et 11 mai 2023.

Participation au Réseau Arbo-France sur le projet du vaccin dengue Dengue Vaxia.

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

---

#### CNR-LC-IRBA

---

Le CNR répond aux demandes d'informations de la part des voyageurs en particulier vis-à-vis du risque Zika.

---

#### CNR-LA-IPG

---

Le CNR-LA IPG reçoit des demandes d'informations, de la part de différents médias mais de particuliers des DFA comme de métropole (interprétation de résultats, conseil aux voyageurs, conseil aux femmes enceintes, conseil pour la protection individuelle. etc).

Participation de D Rousset et A Lavergne sur Guyane la 1<sup>ère</sup> radio à une émission de « Fo Zot Savé » sur les Emergences virales- Emission 10h-11h le 05/03/2022

---

#### CNR-LA-LR

---

*Pas de nouveaux éléments pour 2022.*

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

---

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

---

#### CNR-LC-IRBA

---

- Investigations virologiques du cas de foetopathie suite à l'infection par le virus Zika, chez une patiente ayant voyagé en Thaïlande. Le CNR-LC-IRBA a pu séquencer la souche en cause et produire une analyse phylogénétique montrant qu'il s'agit d'une souche appartenant à une lignée asiatique pré-américaine. Ce travail montre que des souches de virus Zika antérieures à la pandémie de 2015 sont également susceptibles de produire des formes graves chez le fœtus. Ce travail est en cours de révision dans le Journal of Infectious Disease.
- Dans un travail collaboratif avec des vétérinaires, nous avons participé à une étude de séroprévalance pour les virus WNV, USUV sur des chiens (n=358) et des chevaux (n=198) du sud de la France. Un total de 8.1% des chiens exposés étaient séropositifs pour le virus WNV et / ou USUV (limites de l'interprétation des séroneutralisations) contre seulement 1.3% des chevaux. La distribution géographique des chiens séropositifs était superposable à celle des cas humains en 2022.
- Un travail collaboratif avec des médecins de Floride et du CDC dans le cadre de l'investigation de cas fatals de dengue en Floride nous a permis de séquencer deux souches de dengue chez des voyageurs français au retour de Floride. Ces séquences ont été déposées sur NCBI (OM909246 et OM909247). L'étude complète du CDC a été publiée dans le N Engl J Med 2021; 384:2257-2259.

---

#### CNR-LA-IPG

---

*Pas de nouveaux éléments pour 2022.*

---

#### CNR-LA-LR

---

#### En cours de soumission :

Harness risk stratification of diabetics with dengue. P Gérardin, A Issop, YM Diarra, J Cousty, MC Jaffar-Bandjee, O Maillard, L Raffray, E Nobécourt, A Bertolotti. Short communication

#### En cours de finalisation :de synthèse et d'écriture ::

Ten years of dengue virus surveillance in Réunion Island : insights from genomic sequencing. E Frumence, , M Vincent, N Traversier, G Li-Pat-Yuen,, N Mnemosyme, G Grard, ,L Ménudier, D Heaugwane, D Wilkinson 1 MC Jaffar-Bandjee

### Projet en cours :

Etude rétrospective des cas de maculopathies survenues lors de l'épidémie de dengue 1 en 2021 : définir les critères de la population atteinte (âge, sexe...), les données cliniques et biologiques, les données virologiques (sérologie, génomique). Travail réalisé avec le service de médecine interne du Pr Loïc Raffray .

Contribution du CNR-LR (MC Jaffar-Bandjee, N Traversier, E frumence):

- Récupérer les prélèvements des autres laboratoires privés et hôpitaux. Réaliser les sérologies, RTPCR, sérotypage et génotypage.
- Interprétation des résultats de sérologie afin de classer les cas en infection primaire ou secondaire
- Analyse phylogénétique de ces génomes avec d'autres génomes ayant circulé dans la même période

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

---

### *CNR-LC-IRBA*

---

**(i) Publications nationales : (0)**

**(ii) Publications internationales : (8)**

Ortu G, **Grard G**, Parenton F, Ruello M, Paty MC, **Durand GA**, Hassani Y, de Valk H, Noel H, Unono Wa Maore group. Long lasting anti-IgG chikungunya seropositivity in the Mayotte population will not be enough to prevent future outbreaks: A seroprevalence study, 2019. Plos One. 2023 18(5): e0285879.

Laidoudi Y, **Durand GA**, Watier-Grillot S, Dessimoulie AS, Labarde C, Normand T, Andréo V, Guérin P, **Grard G**, and Davoust B. Evidence of Antibodies against the West Nile Virus and the Usutu Virus in Dogs and Horses from the Southeast of France. Transboundary and Emerging Diseases. 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/8779723>

Cochet A, Calba C, Jourdain F, **Grard G**, **Durand GA**, Guinard A, Investigation team, Noël H, Paty MC, Franke F. Autochthonous dengue in mainland France, 2022: geographical extension and incidence increase. Euro Surveill. 2022;27(44):pii=2200818.

Bastard J, **Durand GA**, Parenton F, Hassani Y, Dommergues L, Paireau J, Hozé N, Ruello M, **Grard G**, Métras R & Noël H. Reconstructing Mayotte 2018–19 Rift Valley Fever outbreak in humans by combining serological and surveillance data. 2022 Dec 21;2(1):163. Commun Med (Lond).

L'Ambert G, Gendrot M, Briolant S, Nguyen A, Pages S, Bosio L, Palomo V, Gomez N, Benoit N, Savini H, Pradines B, **Durand GA**, **Leparc-Goffart I**, **Grard G**, Fontaine A. Analysis of trapped mosquito excreta as a noninvasive method to reveal biodiversity and arbovirus circulation. Mol Ecol Resour. 2022 Sep 26. doi: 10.1111/1755-0998.13716. Epub ahead of print. PMID: 36161270.

Gonzalez G, Bourmez L, Moraes RA, Marine D, Galon C, Vorimore F, Cochin M, Nougairède A, Hennechart-Collette C, Perelle S, **Leparc-Goffart I**, **Durand GA**, **Grard G**, Bénet T, Danjou N, Blanchin M, Lacour SA, Franck B, Chenut G, Mainguet C, Simon C, Brémont L, Zientara S, Moutailler S, Martin-Latil S, Dheilly NM, Beck C, Lecollinet S. A

One-Health Approach to Investigating an Outbreak of Alimentary Tick-Borne Encephalitis in a Non-endemic Area in France (Ain, Eastern France): A Longitudinal Serological Study in Livestock, Detection in Ticks, and the First Tick-Borne Encephalitis Virus Isolation and Molecular Characterisation. *Front Microbiol.* 2022 Apr 11;13:863725. doi:10.3389/fmicb.2022.863725. PMID: 35479640; PMCID: PMC9037541.

Javelle E, de Laval F, **Durand GA**, Dia A, Ficko C, Bousquet A, Delaune D, Briolant S, Mérens A, Brossier C, Pommier H, Gala F, Courtiol A, Savreux Q, Sicard S, Sanchez JP, Robin F, Simon F, de Lamballerie X, **Grard G**, **Leparc-Goffart I**, Pommier de Santi V. Chikungunya Outbreak in Country with Multiple Vectorborne Diseases, Djibouti, 2019-2020. *Emerg Infect Dis.* 2023 Apr;29(4):826-830.

Fourié T, **Durand GA**, Touret F, Piorkowski G, Dubot-Pérès A, de Lamballerie X, **Leparc-Goffart I**, **Grard G**. Molecular characterization of dengue virus serotype 1 infections in French travelers from Africa between 2013 and 2019. *Front. Virol.*, 20 April 2023.

**(iii) Communications nationales (1)**

Paty MC, **Grard G**. Increase in local dengue transmission in mainland France, summer 2022. *Colloque ArboFrance.* Oct 2022.

**(iv) Communications internationales (0)**

**(v) Conférences sur invitations (0)**

---

**CNR-LA-IPG**

---

**(i) Publications nationales : (1)**

Epelboin L, Abboud P, Abdelmoumen K, About F, Adenis A, Blaise T, Blaizot R, Bonifay T, Bourne-Watrin M, Boutrou M, Carles G, Carlier PY, Carod JF, Carvalho L, Couppe P, De Toffol B, Delon F, Demar M, Destoop J, Douine M, Droz JP, Elenga N, **Enfissi A**, Franck YK, Fremery A, Gaillet M, Kallel H, Kpangon AA, **Lavergne A**, Le Turnier P, Maisonobe L, Michaud C, Mutricy R, Nacher M, Naldjinan-Kodbaye R, Oberlis M, Odonne G, Osei L, Pujot J, Rabier S, Roman-Laverdure B, Rousseau C, **Rousset D**, Sabbah N, Sainte-Rose V, Schaub R, Sylla K, Tareau MA, Tertre V, Thorey C, Vialette V, Walter G, Zappa M, Djossou F, Vignier N. Panorama des pathologies infectieuses et non infectieuses de Guyane en 2022. *MTSI-Revue* 2023 Vol 3, N°1. <https://doi.org/10.48327/mtsi.v3i1.2023.308>

**(ii) Publications internationales (5)**

1. Bonifay T, Le Turnier P, Epelboin Y, Carvalho L, De Thoisy B, Djossou F, Duchemin JB, Dussart P, **Enfissi A**, **Lavergne A**, Mutricy R, Nacher M, Rabier S, Talaga S, Talarmin A, **Rousset D**, Epelboin L. Review on main arboviruses circulating on French Guiana, an ultra-peripheric European region in South America. *Viruses* 2023, 15, 1268. <https://doi.org/10.3390/v15061268>
2. Hozé N, Salje H, **Rousset D**, Fritzell C, Vanhomwegen J, Bailly S, Najm M, Enfissi A, Manuguerra JC, Flamand C, Cauchemez S. Author Correction Reconstructing Mayaro virus circulation in French Guiana shows frequent spillovers. *Nat Commun.* 2023 Feb 24;14(1):1064. doi: 10.1038/s41467-023-36843-z.
3. Didier Musso, **Dominique Rousset**, Christophe Peyrefitte. Special Issue "Endemic Arboviruses". *Viruses*, MDPI, 2022, 14 (3), pp.645. (10.3390/v14030645). (hal-03678590)
4. Mutricy R, Matheus S, Mosnier E, Martinez-Lorenzi E, De Laval F, Nacher M, Niemetzky F, Naudion P, Djossou F, **Rousset D**, Epelboin L. Mayaro virus infection in French Guiana, a cross sectional study 2003-2019. *Infection, Genetics and Evolution*, 99, 2022, 105243. doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105243.
5. Lambert V, **Enfissi A**, Lefebvre M, Pomar L, Kedous S, Carles G, **Lavergne A**, Guimiot F, **Rousset D**, Hcini N. Tonate virus and fetal abnormalities, French Guiana, 2019. *Emerg Infect Dis.* 2022;28(2):445-448. doi:10.3201/eid2802.210884



**(iii) Communications nationales (3)**

1. D Rousset et JB Duchemin : Situation épidémiologique Oropouche et Mayaro en Guyane – Arbofrance 02/02/2022
2. D Rousset: Présentation Oropouche Mayaro / réunion des laboratoires arboviroses SPF/ CNR arbo IRBA 03/06/2022
3. D Rousset: Présentation : Surveillance des arbovirus en Guyane – Bilan à 3 mois – Journée Régionale de Veille Sanitaire – Grand Hôtel Montabo – 14/11/2022

**(iv) Communications internationales (0)**

**(v) Conférences sur invitations (0)**

---

**CNR-LA-LR**

---

**(i) Publications nationales : (0)**

**(ii) Publications internationales : (2)**

Investigation of dengue in asymptomatic individuals during a recent outbreak in La Réunion. De Santis O, Pothin E, Bouscaren N, Irlandais S R, Jaffar-Bandjee MC, Ménudier L, Ramis J, Schultz C, Lamaurt F, Wisniak A, Bertolotti A, Hafia S, Dusart P, Baril L, Mavingui P, Flahaut A. Virus, 2023 ; 15(3) :742.

Accepté, en cours de publication :

Dengue in Reunion island from 2018 to 2021 : paving the way to endemicity. M Vincent, MC Paty, P Gérardin, E Balleydier, A Etienne, J Daoudi, F Thouillot, MC Jaffar-Bandjee 1 L Ménudier. Eurosurveillance.

**(iii) Communications nationales (0)**

**(iv) Communications internationales (0)**

**(v) Conférences sur invitations (0)**

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

---

---

### CNR-LC-IRBA

---

La directrice adjointe G. Grard est membre du GT TBE de l'ANSES.

Le CNR collabore avec l'unité de parasitologie et entomologie de l'IRBA et l'EID méditerranée pour le xenomonitoring des arbovirus (détection virale dans les excréta de moustiques piégés). Il collabore également avec le réseau Obepine pour évaluer la pertinence des boues et eaux usées comme indicateur d'une circulation d'arbovirus. Le CNR interagit avec le CNR Borrelia pour la recherche du virus TBE dans les tiques collectées.

---

### CNR-LA-IPG

---

Coopération avec les laboratoires de santé animale et de sécurité sanitaire des aliments : non applicable

A noter toutefois en 2022, une collaboration avec l'unité d'Entomologie Médicale (UEM) de l'IPG dans le cadre d'investigations menées autour des cas d'Orthobunyavirus détectés en 2022. (Captures de moustiques menées par l'UEM au niveau des lieux présumés de contamination. Pour les 2 premiers cas, parmi les moustiques capturés identification d'une majorité de culex et notamment de *Cx. (Mel.) portesi*.)

---

### CNR-LA-LR

---

Collaboration avec le CIRAD : production d'expertise commune dans le cadre one Health avec le Dr David Wilkinson.

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

---

---

### CNR-LC-IRBA

---

Principaux points (voir dossier de candidature CNR pour plus de détails) :

- Evolution du manuel de prélèvement et des matrices requises pour l'amélioration de l'expertise
- Structuration de la biobanque avec isolats, séquençage rétrospectif, et banque de données
- Evolution du flux d'analyses de 1ere et 2eme ligne axée sur l'automatisation, la reproductibilité et la diversité
- Séroneutralisation semi-automatisée avec chaîne pipetteur – distributeur – lecture d'ECP continue; séroneutralisation sur les IgM
- Evaluation de kits et via partage de ressources, essais inter-laboratoires et compilations des résultats publié sur le site internet du CNR
- Renforcement des transferts/échanges (techniques, ressources) avec les territoires français ultra-marins

---

### CNR-LA-IPG

---

- Renforcement des capacités de diagnostic moléculaire avec la poursuite de mises au point de techniques de RT-qPCR pour la détection des Orthobunyavirus (autres que le séro groupe C).
- Poursuite de l'accréditation ISO 15189 des techniques de détection des arbovirus par RT-qPCR
- Renforcement des capacités de séquençage avec mise au point de techniques NGS-MinION (en priorité pour les virus Dengue 1 à 4, pour les Orthobunyavirus, pour la Fièvre jaune).
- Restructurer la biobanque du CNR-LA-IPG (souches récentes mais aussi anciennes, avec caractérisation génétique)
- Organisation d'EIL (Echanges inter laboratoires) pour les RT-qPCR de détection des virus non couverts par les EEQ commerciaux (MAY, TON Oropouche, YF, ...)
- Participation à des projets de recherche (sous réserve d'acceptation des financements)
  - Séroprévalence des Orthobunyavirus (développement d'outils Luminex et études de séroprévalence en population humaine (collection EPI-ARBO) et animale (collection LIVH)
  - Déterminants de la Dengue grave dans les territoires français ultramarins
  - Détection de la circulation des arbovirus dans l'environnement (eaux usées – réseau Obépine)

---

### CNR-LA-LR

---

**N+1 :**

Terminer la valorisation de notre biothèque historique dengue 2012-2022

Mise au point du séquençage du virus Zika

Utilisation du NGS dans le cadre du diagnostic des arbovirus en développant une méthode d'amplicons basée sur des amorces panflavi et pan Alpha, suivie de séquençage.

Projet de tester l'automate SD Biosensor M10 d'Eurobio pour la réalisation en urgence (POCT) leur multiplex Arbovirus

**N+2 :**

Améliorer notre technique de séroneutralisation : prévoir une formation au CNR Coordonateur de notre ingénieur Etienne Frumence

Projet de développer une technique de sérologie multiplexe de type Magpix.

# 1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

---

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

### ➤ **Expertise**

- en apportant son expertise aux laboratoires pour le diagnostic des arboviroses en France métropolitaine et dans les DOM ;
- en développant et/ou validant les techniques diagnostiques sérologiques et moléculaires des arboviroses ;
- 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 ;
- en apportant son expertise aux agences sanitaires et partenaires institutionnels (HCSP, en particulier le SECPROCH, ANSM, ABM, EFS, CTSA, SpFrance) dans le cadre de la sécurité portant sur les produits et éléments du corps humain, notamment :
- en contribuant au développement et à l'évaluation des méthodes diagnostiques et au contrôle qualité et en assurant une veille scientifique et technologique sur ces méthodes ;
- en participant aux groupes de travail de l'ANSM et aux expertises du HCSP et à toute étude réalisée dans le cadre de la sécurisation des éléments et produits issus du corps humain (étude épidémiologique, enquête de séroprévalence...);
- en contribuant à la collecte des échantillons et à la surveillance des donneurs de sang au niveau national voire européen,
- 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.

### ➤ **Conseil**

- aux professionnels de santé
- auprès du ministère chargé de la santé, des agences régionales de santé (ARS), de l'Agence nationale de santé publique (SpF), des autres agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité de santé (HAS), du Haut Conseil pour la santé publique (HCSP)
- participation à l'élaboration de mesures de prévention et de contrôle des maladies infectieuses
- réponse aux demandes d'expertise, d'investigation ou à des enquêtes

### ➤ **Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique**

- plus particulièrement en lien avec les Cellules Régionales de Santé publique France, 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 et textes réglementaires concernant la lutte contre ces virus en vigueur en France métropolitaine et dans les DOM ;
- en contribuant aux réseaux de surveillance européens et internationaux ;
- en contribuant à la veille internationale sur les arboviroses.

### ➤ **Contribution 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... ;
- en contribuant à l'investigation des alertes et notamment des foyers de transmission autochtone

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

### CNR-LC-IRBA

Noms et Prénoms	Qualifications	Fonctions	ETP	Organisme payeur
Xavier de Lamballerie	PHPH	Directeur scientifique	0,20	AMU
Gilda Grard	PhD	Directeur exécutif	0,80	IRBA
Guillaume Durand	MD, PhD	Directeur exécutif	0,50	IRBA
Nazli Ayhan	PhD	Responsable scientifique d'équipe	1,00	INSERM
Laura Pezzi	PhD	Responsable scientifique d'équipe	1,00	INSERM
Raphaëlle Klitting, PhD	PhD	Responsable scientifique d'équipe	1,00	INSERM
Manon Geulen	BTS	Technicien laboratoire	0,80	IRBA
Manon Peden	BTS	Technicien laboratoire	0,80	IRBA
Laurent Bosio	BTS	Technicien laboratoire	0,80	IRBA
Bernard Tenebray	BTS	Technicien laboratoire	0,80	IRBA
Thomas Canivez	BTS	Technicien laboratoire	1,00	INSERM
<i>À recruter</i>		Technicien laboratoire	1,00	INSERM
<i>À recruter</i>		Technicien laboratoire	1,00	INSERM
<i>À recruter</i>		Technicien laboratoire	1,00	INSERM
<i>À recruter</i>		Sécrétaire	1,00	INSERM

**Tableau 15.** Personnels affectés aux activités du CNR Arbovirus en métropole à partir de 2023. Pour des raisons administratives et financières le CNR de métropole est supporté par 2 organismes (laboratoire coordonnateur INSERM et laboratoire associé IRBA) dont les personnels et activités fonctionnent de façon totalement imbriquée comme une seule et unique entité fonctionnelle.

**CNR-LA-IPG**

L'organigramme est présenté dans la Figure 1 précédente.

Nom	Prénom	Fonction	Qualification	Organisme payeur	ETP CNR Arbovirus
ROUSSET	Dominique	Responsable	MD, PhD	IP, Paris (CDI)	0,7
LAVERGNE	Anne	Responsable adjoint	PhD	IP, Paris (CDI)	0,3
LABEAU	Bhétý	Technicien supérieur	DELAM	IP, Guyane (CDI)	1
MOUA	David	Technicien supérieur	BTS	IP, Guyane (CDI)	0.5
HO	Valérie	Technicien supérieur	BTS	IP, Guyane (CDI)	0.8
THOMAS	Norma-Jean	Secrétaire (->06/2023)	-	IP, Guyane (CDI)	0,5
BRIAND	Dominique	Secrétaire (depuis 07-2023)	-	IP, Guyane (CDI)	0,5

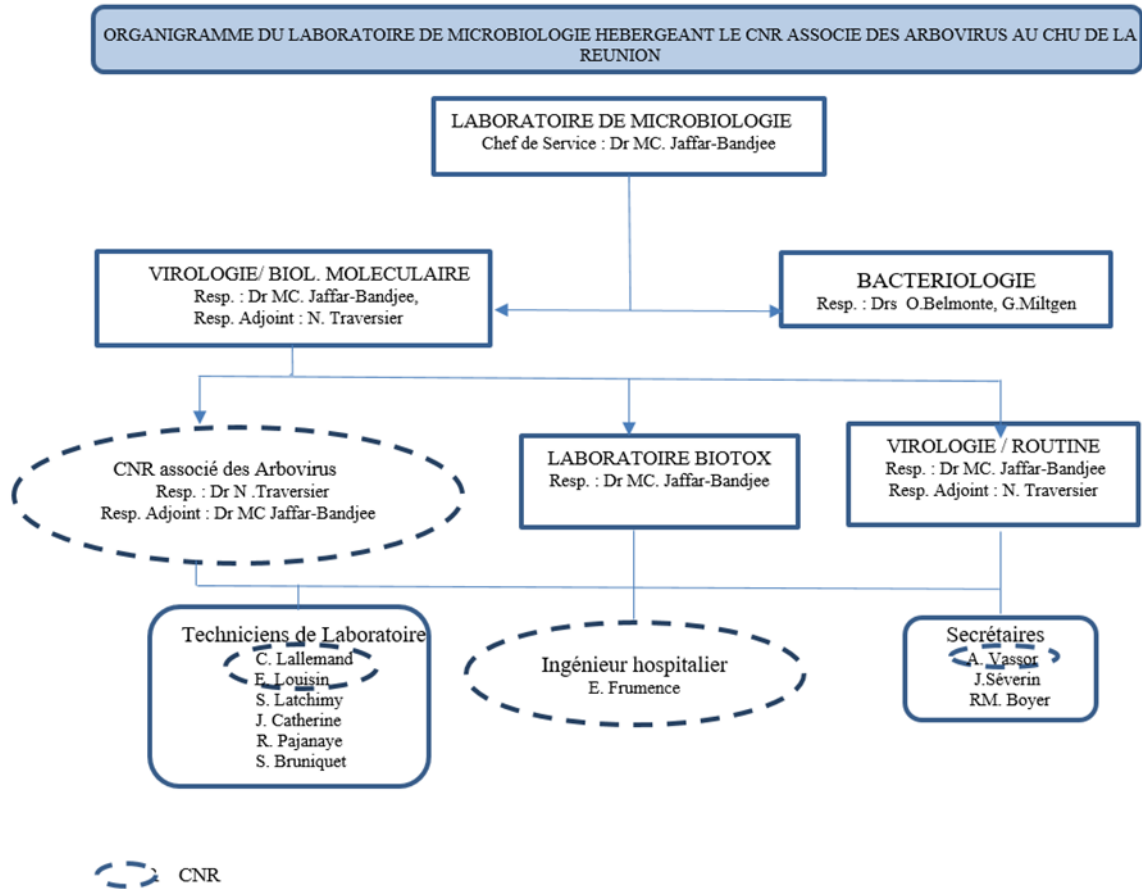
**Tableau 16** : Personnels affectés aux activités du CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane en 2022

**CNR-LA-LR**

Nom	Prénom	Fonction	Qualification	Organisme Payeur	ETP CNR arbovirus
Traversier	Nicolas	Responsable	Pharm D	CHU	0.30
Jaffar-Bandjee	M-Christine	Responsable adjoint	MD, PhD	CHU	0,20
Frumence	Etienne	Ingénieur	PhD	CHU	1
Lallemand	Claudia	Technicienne (Biol mol)	BTS	CHU	1
Louisin	Elisma	Technicien de laboratoire (sérologie)	BTS	CHU	1
A recruter		Technicienne de laboratoire (séquençage, culture)	BTS	CHU	1
Vassor	Anne	Secrétaire	Secrétaire médicale	CHU	0,20

**Tableau 17.** Effectifs du CNR-LA LR prévus pour le mandat 2023-2027

Figure 10. Organigramme du CNR-LA-LR



### 1.3 Locaux et équipements

---

#### CNR-LC-IRBA

---

Rien de nouveau à signaler en 2022.

---

#### CNR-LA-IPG

---

Rien de nouveau à signaler en 2022.

---

#### CNR-LA-LR

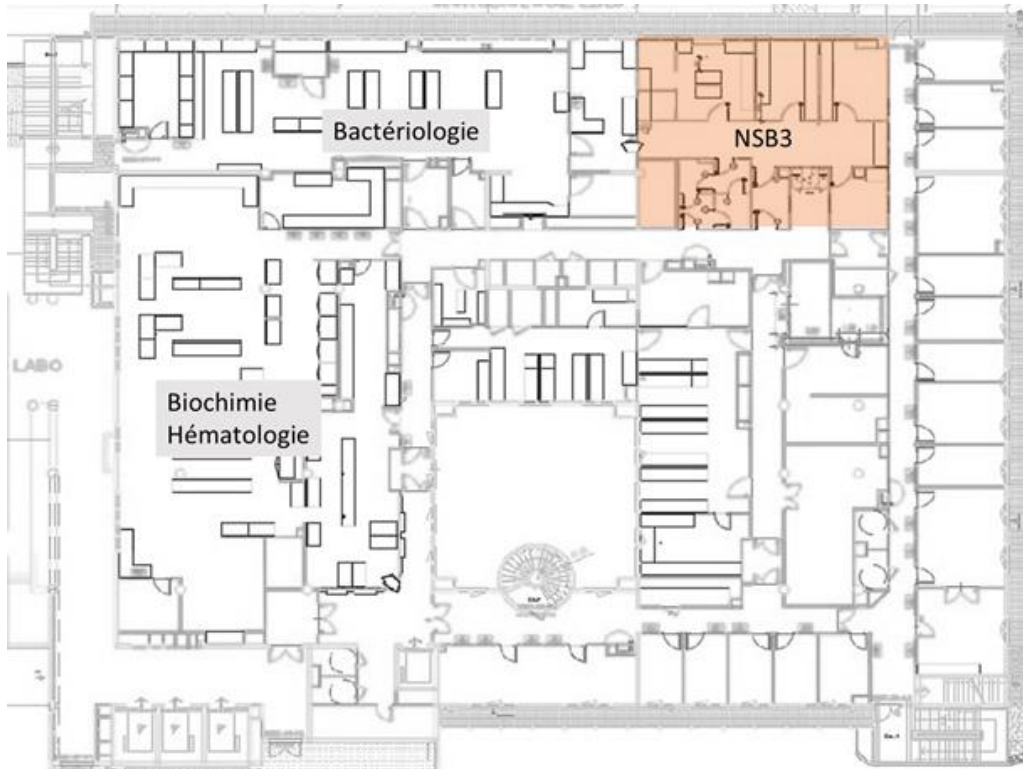
---



Le CNR-LA-LR est installé dans le Bâtiments des Soins Critiques (BSC) sur le site de l'Hôpital Félix Guyon à Saint-Denis dans les locaux du laboratoire de microbiologie depuis fin 2018. Les locaux sont répartis sur 3 niveaux :

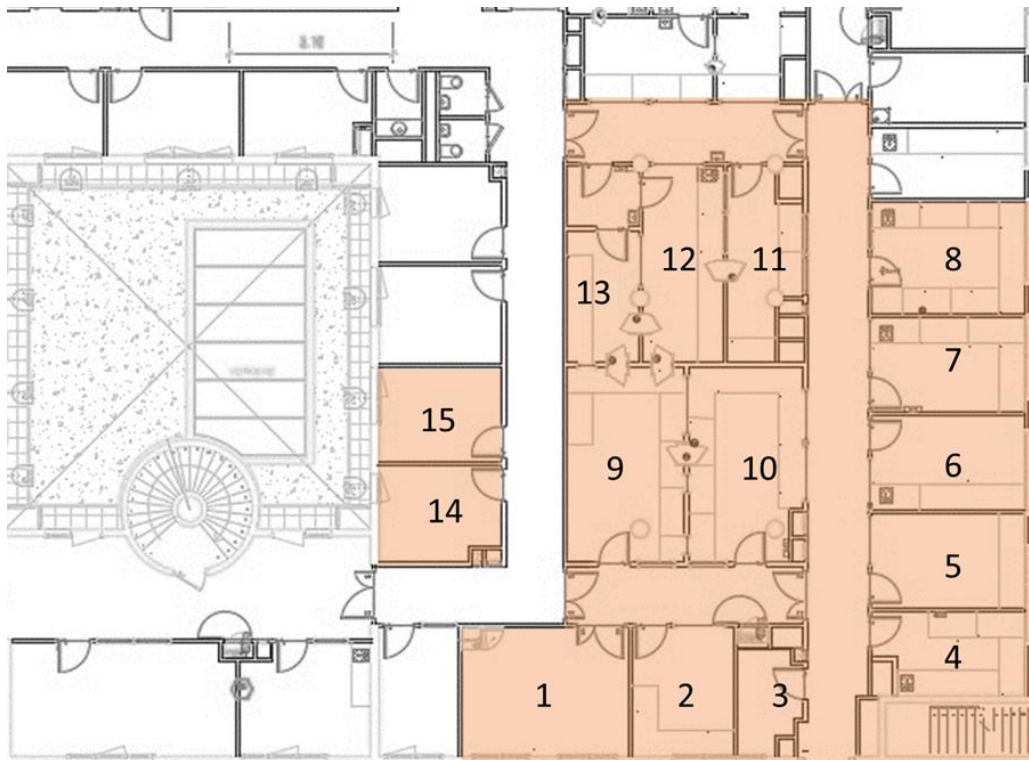
- **BSC Niveau 0 : Laboratoire NSB3**

Le laboratoire NSB3 d'une superficie de 180 m<sup>2</sup> permet de réaliser les activités de culture, de séroneutralisation du CNR. Sont aussi réalisées les activités de mycobactériologie et de Biotox.



- **BSC Niveau -1 : Plateforme de Biologie Moléculaire et de Sérologie**

Cette plateforme de 200 m<sup>3</sup> est mutualisée avec l'activité de routine du laboratoire.



**Salles utilisées par l'activité du CNR-LA LR :**

- 1 : salle réfrigérateurs, congélateurs
- 2 : réception échantillons
- 3 : stock température ambiante
- 5 : salle interprétation
- 7 : sérologie
- 9 : extraction
- 11 : thermocycleurs
- 12 : salle de pose
- 13 : salle blanche
- 14, 15 : bureaux biologistes

▪ **Bâtiment S : 3eme étage: plateforme de séquençage**

Cette plateforme d'une surface d'environ de 100 M3 livrée en mai 2022 a pour vocation de compléter les locaux de la génétique et de permettre une mutualisation des automates : MiniSEQ de la génétique et GridION de la microbiologie.



10

1. Salle d'extraction, 9.45m<sup>2</sup>
2. Salle de RT, 9.5m<sup>2</sup>
3. Stock, 6.7m<sup>2</sup>
4. Salle de séquençage, 37.46m<sup>2</sup>
5. Bureau 1, 10.86m<sup>2</sup>
6. Bureau 2, 4.81m<sup>2</sup>

## Equipements

### **Pour la Biologie moléculaire :**

- 2 Extracteurs Easy-Mag (Biomérieux)
- 1 Extracteur pour les urgences MagNa Compact (Roche Diagnostics)
- 2 thermocycleurs LC480 (Roche Diagnostics)
- 2 PSM

### **Pour la sérologie :**

- 2 Etimax (Diasorin)

### **Pour la culture en laboratoire NSB3 :**

- 2 Etuves,
- 1 PSM,
- 2 réfrigérateurs,
- 1 congélateurs

### **Pour le séquençage :**

- Extracteur E-MAG (Biomérieux)
- Robot Assist Plus (Integra BioSciences)
- Lecteur de microplaque Viktor Nivo (Perkin Elmer)
- Station de pipetage Zephyr (Perkin Elmer)
- 5 Thermocycleurs pour la RT et l'amplification
- Séquenceurs GridION et MinION (Oxford Nanopore) avec la possibilité d'utiliser le MiniSEQ du service de Génétique

## 1.4 Collections de matériel biologique

### CNR-LC-IRBA

La plupart des souches du CNR de métropole (collectées d'une part durant le mandat de CNR-LC-IRBA et complétées d'autre part par les ressources du nouveau CNR-LC-INSERM) sont disponibles via la plateforme EVA. Toutes ces ressources (Tableau 18) sont stockées dans des -80 sécurisés, eux même localisés dans des pièces à accès réglementé. Un CRB est en cours de constitution mais n'est pas encore fonctionnel.

**Tableau 18.** Collection de souches, antigènes ou immuns-sérums au CNR-LC (IRBA).

FAMILLE	GENRE	VIRUS	No. DE SOUCHES IRBA	No. DE SOUCHES UVE	ANTIGENES	IMMUN-SERUMS
FLAVIVIRIDAE	FLAVIVIRUS	DENGUE 1	150	39	OUI	OUI
		DENGUE 2	80	35	OUI	OUI
		DENGUE 3	60	21	OUI	OUI
		DENGUE 4	23	11	OUI	OUI
		WEST NILE	21	5	OUI	OUI
		USUTU	1	1	OUI	OUI
		ENCEPHALITE DE ST LOUIS	3	1	OUI	OUI
		ENCEPHALITE JAPONAISE	8	2	OUI	OUI
		FIEVRE JAUNE	15	9	OUI	OUI
		WESSELSBRON	1	1	OUI	OUI
		TBE	2	6	OUI	OUI
		NTAYA	3	1	NON	NON
		SABOYA	2	1	NON	NON
		ZIKA	7	12	OUI	OUI
		MURRAY VALLEY	2	1	NON	?
		RSSE (RUSSIAN SPRING SUMMER ENCEPHALITIS)	3		NON	?
ILHEUS	1	1	NON	?		

		ROCIO	1	1	NON	NON
TOGAVIRIDAE	ALPHAVIRUS	CHIKUNGUNYA	120	43	OUI	OUI
		O'NYONG NYONG	1	1	OUI	NON
		MAYARO	4	1	OUI	OUI
		SEMLIKI FOREST	4	2	OUI	NON
		TONATE	2		OUI	OUI
		SINDBIS	21	2	OUI	OUI
		VEE	14	2	OUI	NON
		EEE	1		NON	NON
		WEE	1		NON	NON
		GETAH	1	1	NON	?
		BARMAH FOREST	1	1	NON	?
		PIXUNA	1		NON	?
		BABANKI	1		NON	?
		OCKELBO	1		NON	?
		ROSS RIVER	1	1	OUI	OUI
BUNYAVIRIDAE	ORTHO-BUNYAVIRUS	BUNYAMWERA	15		OUI	OUI
		ILESHA	5		NON	NON
		BWAMBA	3		NON	NON
		INGWAVUMA	1		NON	NON
		LUMBO	1		NON	NON
		NYANDO	1		NON	NON
		BAHIG	1		NON	NON
		OROPOUCHE	1		NON	?
		SCHMALLENBERG	1		NON	?
		TAHYNA	10		OUI	OUI
	NAIROVIRUS	DUGBE	2		OUI	OUI
		ERVE	1		NON	NON
	PHLEBOVIRUS	TOSCANA	19	15	OUI	OUI

		SANDFLY NAPLES	2		OUI	NON
		SANDFLY SICILIAN	7		OUI	OUI
		CHAGRES	1		NON	?
		PUNTA TORO	1		NON	?
		KARIMABAD	1		NON	?
		ICOARACI	1		NON	?
		FIEVRE DE LA VALLEE DU RIFT	6		OUI	OUI

---

### CNR-LA-IPG

---

*Rien de nouveau a signalé en 2022.*

---

### CNR-LA-LR

---

Le CNR LR possède 173 souches isolés de virus de la Dengue et 5 souches isolées du virus Chikungunya en ce début de mandat 2023. Des souches de référence transmises par le CNR coordonnateurs sont aussi conservées : CHIKV, ONNV, DENV1 à 4 et WNV.

Nous avons le projet de mettre à disposition nos isolats de la communauté scientifique via le Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHU (convention en cours).

La biothèque de prélèvements (serum et plasma) du CNR LR est composée de plus de 4000 échantillons.

L'organisation mise en place est décrite dans la procédure du Système Qualité Sapanet et permet :

-en biologie moléculaire une biothèque automatique de tous les positifs sans durée limite de conservation (congélateur 59939 3 étagères de 80 boites de 81 tubes)

-en sérologie, conservation de tous les sérums pendant 2 ans avant transfert au CRB (conélateur 53925, 12 boites de 81) , convention avec le CRB en cours

L'ensemble de ces prélèvements est conservé à -80°C. Les enceintes équipées de capteurs de température de la gamme SpyRF sont surveillées métrologiquement à l'aide du logiciel mysirius permettant l'exploitation des données et des alarmes. Un modem Ethernet est installé dans chaque labo assurant ainsi la communication par radiofréquence avec les SpyRF.

Via le SIL inlog, on peut retrouver toutes les séro/plasmathèques existantes pour le CNR ainsi que la position exacte dans la biothèque (congélateur, boite, position dans la boite).

Cette sérothèque est rangée dans une pièce spécifique accessible via un badge CODA, avec accès restreint au personnel de biologie moléculaire.

## 1.5 Démarche qualité du laboratoire

---

### CNR-LC-IRBA

---

Le laboratoire est accrédité par le COFRAC (n° d'accréditation 8-4083) selon la norme NF EN ISO 15189. Sont accréditées en portée B (portée flexible) les analyses suivantes :

- détection du génome viral par qRT-PCR des virus Chikungunya et Dengue (sous-famille VIROH)
  - détection des IgM et IgG anti-dengue et anti-Chikungunya par des techniques « maison » (sous-famille ISEROBM)
- Ces analyses représentent 50% de l'activité diagnostique du laboratoire. La visite de ré-évaluation a eu lieu en juillet 2022 (aucun écart critique).

Le laboratoire est également accrédité selon la norme ISO 9001.

---

### CNR-LA-IPG

---

Le laboratoire de virologie qui abrite le CNR-LA IPG, est accrédité par la section santé humaine, selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du COFRAC, sous le numéro 8-3373 depuis novembre 2014 pour la version 2007 et depuis novembre 2015 pour la version 2012 de cette norme en portée B flexible (sous-familles concernées : Microbiologie générale et Virologie spécialisée). Cette accréditation concerne les activités diagnostiques en sérologie du Chikungunya (IgM, IgG), et en biologie moléculaire (détection des virus Dengue, Chikungunya, Zika et typage des virus Dengue) représentant la majorité de l'activité du laboratoire (% variables en fonction de la situation épidémiologique).

Le CNR-IPG participe à différents contrôles de qualité externe (OMS, OPAS, réseau SEGA, ...) et Echanges Inter Laboratoires.

---

### CNR-LA-LR

---

Le laboratoire est accrédité pour la pcr triplex chikungunya/dengue/leptospirose en portée B depuis 2019 (ligne de portée MG05 sur sang et urines).

La ligne de portée MG01 est également accréditée depuis 2019 pour les sérologies.

Une demande d'extension est en cours pour la ligne de portée BM MG06 (séquençage haut débit NGS).

Le laboratoire participe chaque année depuis 2018 aux EEQ QCMD pcr chikungunya et dengue (dont typage). En 2022, les résultats étaient satisfaisants à 100% sur les échantillons « core » pour chikungunya et dengue.

De manière régulière, le laboratoire participe à l'eeq pcr zika QCMD (2017 à 2020, 2023) ; non évalué pendant période covid.

Les sérologies dengue sont évaluées à l'aide de l'eeq labquality depuis 2017. En 2022, les résultats étaient satisfaisants à 100%.

## 2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

---

### 2.1 Liste des techniques de référence

---

#### CNR-LC-IRBA

---

##### En sérologie :

- ELISA "maison" : sur virus inactivés produits en NSB3 / ascites hyperimmunes : IgM (MAC-ELISA) et IgG (ELISA indirect), accrédités ISO 15189 pour les virus dengue et Chikungunya
- ELISA commercial : EUROIMMUN en cours d'accréditation en 2023 pour le virus dengue et Chikungunya
- Séroneutralisation : technique de microneutralisation en plaque 96 puits, sur sérum total ou uniquement sur IgM après déplétion des IgG. Pas d'accréditation.
- Détection de l'antigène NS1 dengue circulant (TDR, ELISA). Pas d'accréditation.

##### En Biologie moléculaire :

- Détection de l'ARN viral et typage dengue par RT-qPCR, accrédités pour les virus dengue et Chikungunya
- Panther fusion (HOLOGIC) : RT-qPCR et TMA Zika, en cours d'accréditation en 2023
- Séquençage viral. Pas d'accréditation.

##### Autre :

- Isolement viral sur lignées cellulaires de moustiques (C6-36) ou de mammifères (Vero). Pas d'accréditation.
- Titrage TCID50. Pas d'accréditation.

---

#### CNR-LC-IPG

---

### Liste des techniques disponibles

##### En sérologie :

- ELISA "maison" : sur antigènes inactivés / ascites hyperimmunes : IgM (MAC-ELISA) et IgG (GAC-ELISA) / IgA (AAC-ELISA)
- Séroneutralisation : technique de microneutralisation en plaque 96
- Détection de l'antigène NS1 dengue circulant (ELISA)

##### En Biologie moléculaire :

- Détection de l'ARN viral et typage par RT-qPCR
- Séquençage : sanger ou NGS (MinION, Nanopore technology)



**Autre :**

- Isolement viral sur lignées cellulaires de moustiques (C6-36) ou de mammifères (Vero)
- Titrage TCID50
- Production et validation de réactifs sérologiques (antigènes, ascites hyperimmunes)

**Tableau 19.** Liste de techniques validées et mises en œuvre par le CNR-LA IPG. (\*Technique accréditée)

Genre	Virus	Sérologie		Culture	Biologie moléculaire
		ELISA (IgM /IgG)	Micro neutralisation (MNT)		RT-qPCR
<b>Alphavirus</b>					
	Chikungunya	■*	■	■	■*
	Tonate	■		■	■
	Mayaro	■	■	■	■
<b>Flavivirus</b>					
	Fièvre jaune	■	■	■	■
	Dengue	■	■	■	■*
	Dengue typage				■*
	West Nile	■		■	■
	Encéphalite de Saint Louis	■		■	■
	Encéphalite japonaise (JEV)				■
	Ilheus (/Rocio)				■
	Zika	■	■	■	■*
<b>Bunyavirus</b>					
	Oropouche	■	■	■	■
	Orthobunyavirus SGC			■	■

#### En sérologie :

- kit Elisa IgG IgM Euro-immun pour Chikungunya
- Kit Dia Pro Diagnostic IgG IgM pour Zika
- Kit Euro-immun IgG IgM pour Dengue

#### En biologie moléculaire :

- Techniques RT-PCR "maison" simplex (techniques transférées du CNR-LC) : Fièvre de la Vallée du Rift, West-Nile, Fièvre Jaune, Encéphalite Japonaise, Virus de l'encéphalite à tique
- Kit Altona RT-PCR Zika
- Multiplex Chik/Dengue/Leptospirose développée localement (Giry C et al BMC Microbiol. 2017 May 3;17(1):105) : **Accrédité**
- RT PCR de typage des dengues 1, 2, 3 et 4.
- Techniques "maison" multiplex développées localement : Pan Flavivirus, Pan Alphavirus (Giry C et al BMC Microbiol. 2017 Jul 24;17)
- Séquençage de la dengue par technique Nanopore.

#### Virologie :

- Production d'isolats de virus sur lignées cellulaires Vero, C6/36
- Titrages viraux
- Séroneutralisation

## 2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le CNR-LC-IRBA a démarré en 2022 un large projet d'évaluation des kits, après avoir identifié ceux qui sont le plus utilisés en première ligne par les laboratoires publics et privés. Ce travail est toujours en cours en 2023 et a pour but de pouvoir diffuser ces résultats sur le site internet du CNR, en destination des autres laboratoires. Ainsi, le CNR aura la possibilité de recommander des techniques de manière claire et argumentée.