

RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITE 2024

CNR Arbovirus

| | Organisme / Structure d'hébergement | Responsable |
|---------------------------|--|-----------------------|
| Laboratoire Coordonnateur | Institut National de la Santé et de la recherche médicale (INSERM) | Xavier de Lamballerie |
| Laboratoire Associé | Institut de Recherche Biomédicale des Armées | Gilda Grard |
| Laboratoire Associé | Institut Pasteur de la Guyane | Dominique Rousset |
| Laboratoire Associé | CHU Saint Denis, La Réunion | Nicolas Traversier |

| | |
|--|-----------|
| Résumé analytique | 4 |
| Faits marquants | 4 |
| Executive summary | 5 |
| Highlights | 5 |
| 1. Missions et organisation du CNR | 6 |
| Organigramme | 6 |
| Mission et Organisation | 10 |
| Démarche Qualité | 10 |
| 2. Activités d'expertise | 12 |
| 2.1 Évolution des techniques | 12 |
| 2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse | 13 |
| 1. Évaluation des kits VIRCLIA Monotests Arbovirus | 13 |
| 2. Évaluation de kit VIDAS Dengue virus NS1 | 15 |
| 3. Evaluation de kit Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR sur BeGenius (ELITech) | 16 |
| 4. Évaluation de kit WNV ELITE MGB sur BeGenius (ELITech) | 16 |
| 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires | 18 |
| 2.4 Collections de matériel biologique | 19 |
| 2.5 Activités d'expertises | 22 |
| 2.6 Activités de séquençage | 30 |
| 2.7 Partage de séquences produites par les CNR | 37 |
| 3. Activités de surveillance | 38 |
| 3.1 Description du réseau de partenaires | 39 |
| 3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections | 41 |
| 3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux | 51 |
| 3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux | 52 |
| 3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance | 53 |
| 4. Alertes | 54 |
| 5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil | 56 |
| 5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé | 56 |
| 5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires | 58 |
| 5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...) | 59 |
| 6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR | 60 |
| 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 | 60 |
| 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 | 62 |
| 7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux | |

| | |
|---|------------------------------------|
| 8. Programme d'activité pour les années suivantes | 68 |
| 1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR | 70 |
| 1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés..... | 70 |
| 1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés..... | 71 |
| 1.3 Locaux et équipements..... | 73 |
| 1.4 Collections de matériel biologique..... | 80 |
| 1.5 Démarche qualité du laboratoire..... | 81 |
| 2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR | 84 |
| 2.1 Liste des techniques recommandées par le CNR..... | 87 |
| 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 CNR. | Erreur ! Signet non défini. |
| 3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR..... | Erreur ! Signet non défini. |
| 4. Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques (non destinées à être rendues publiques) | Erreur ! Signet non défini. |

Résumé analytique

Faits marquants

L'année 2024 a été une nouvelle année record pour la Dengue au niveau mondial, avec notamment plus de 13 millions de cas dans les Amériques (source PAHO). En France, l'année 2024 est une année charnière, avec pour la dengue: >19,000 cas dans les départements des Antilles, >16,000 en Guyane, 1300 à la Réunion et 4817 cas importés en France métropolitaine, avec le plus grand nombre de cas de dengue autochtones (83 cas pour 11 foyers) ; une épidémie d'Oropouche en Amérique Latine et à Cuba, responsable de nombreux cas importés ; la reprise de circulation du chikungunya à la Réunion (133 cas) ; la circulation soutenue du virus West Nile en métropole (38 cas) et le premier cas humain en Guadeloupe. En termes organisationnels, plus d'un tiers des prélèvements analysés l'ont été dans le cadre des greffes d'organes, de tissus et de cellules sans que soit identifié un mécanisme de financement de cette activité. Pour la Guyane Française, après le redémarrage d'épidémies de Dengue dans tous les Départements Français des Amériques (DFA) en 2023, l'année 2024 a été marquée par une poursuite de la circulation épidémique des sérotypes 2 +/- 3 dans tous les territoires sur une large partie de l'année.

Executive summary

Highlights

2024 was another record year for Dengue worldwide, with over 13 million cases in the Americas (source PAHO). In France, 2024 is a pivotal year with, for dengue fever: >19,000 cases in the West Indies departments, >16,000 in French Guiana, 1,300 in Réunion and 4,817 imported cases in mainland France, with the highest number of indigenous dengue cases (83 cases for 11 outbreaks); an epidemic of Oropouche in Latin America and Cuba, responsible for many imported cases; the resumption of chikungunya circulation in Réunion (133 cases); sustained circulation of the West Nile virus in mainland France (38 cases) and the first human case in Guadeloupe. In organizational terms, more than a third of the samples analyzed were taken in the context of organ, tissue and cell transplants, without any mechanism being identified for financing this activity. For French Guyana, after the resumption of Dengue epidemics in all the French Departments of the Americas (DFA) in 2023, 2024 was marked by a continuation of the epidemic circulation of serotypes 2 +/- 3 in all territories over a large part of the year.

1. Missions et organisation du CNR

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

CNR-METROPOLE : CNR fonctionnel en métropole, qui réunit le laboratoire coordonnateur Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale) et le laboratoire associé IRBA (Institut de Recherche Biomédicale des Armées)

CNR-LA-IPG : CNR laboratoire associé Institut Pasteur de la Guyane

CNR-LA-LR : CNR Laboratoire associé La Réunion

Organigramme

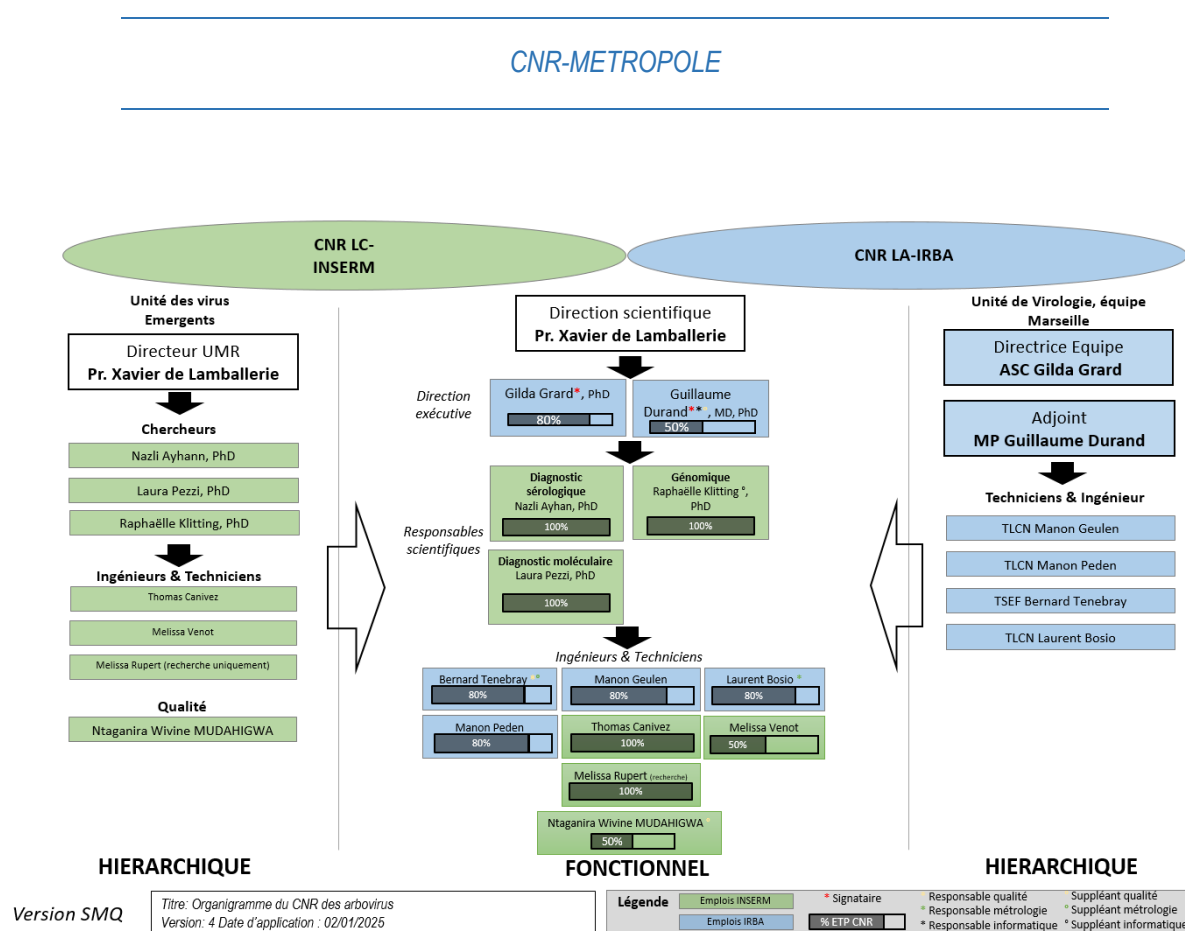


Figure 1. Organigramme du CNR-métropole en 2024

Tableau 1. Personnels affectés aux activités du CNR Arbovirus en métropole à partir de 2024. Pour des raisons administratives et financières le CNR de métropole est supporté par deux 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.

| Noms et Prénoms | Qualifications | Fonctions | ETP | Organisme payeur |
|-----------------------|--------------------|--|-----|------------------|
| Xavier de Lamballerie | PU-PH | Directeur scientifique | 0,2 | AMU |
| Gilda Grard | PhD | Directeur exécutif | 0,8 | IRBA |
| Guillaume Durand | MD, PhD | Directeur exécutif | 0,5 | IRBA |
| Nazli Ayhan | PhD | Responsable scientifique d'équipe, plateforme sérologie | 1 | INSERM |
| Laura Pezzi | PhD | Responsable scientifique d'équipe, plateforme biologie moléculaire | 1 | INSERM |
| Raphaëlle Klitting | PhD | Responsable scientifique d'équipe, plateforme génomique | 1 | INSERM |
| Manon Geulen | BTS | Technicien de laboratoire | 0,8 | IRBA |
| Manon Peden | BTS | Technicien de laboratoire | 0,8 | IRBA |
| Laurent Bosio | BTS | Technicien de laboratoire | 0,8 | IRBA |
| Bernard Telebray | BTS | Technicien de laboratoire | 0,8 | IRBA |
| Thomas Canivez | BTS | Technicien de laboratoire | 1 | INSERM |
| Mélissa Rupert | M1 | Assistante Ingénieur | 0,8 | INSERM |
| Mélissa Venot | BTS, en alternance | Technicien de laboratoire | 0,8 | INSERM |

CNR-LA-IPG

En 2024, l’organigramme du CNR-LA-IPG a évolué avec le recrutement d’une technicienne supérieure de laboratoire, Mme Léa Cabanne, en juillet 2024.

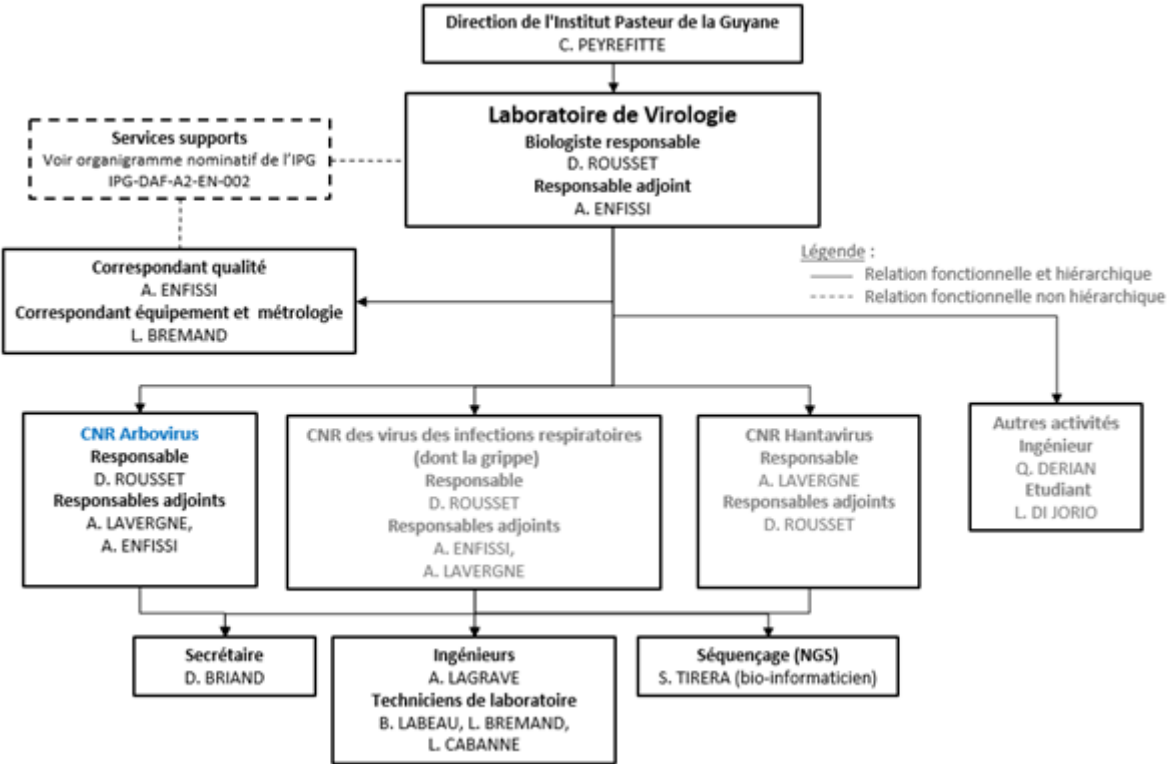


Figure 2. Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane en décembre 2024.

Tableau 2 : Effectifs et ETP du CNR-LA-IPG en 2024

| Nom | Prénom | Fonction | Qualification | Organisme Payeur | ETP CNR arbovirus |
|------------|------------|--|---------------|------------------|-------------------|
| Rousset | Dominique | Responsable | MD, PhD | IP Paris | 0.65 |
| Enfissi | Antoine | Responsable adjoint | PhD | IP Guyane | 0.3 |
| Lavergne | Anne | Responsable adjoint | PhD | IP Paris | 0.2 |
| Peyrefitte | Christophe | Responsable adjoint (jusque nov 2024) | PhD | IP Paris | 0.02 |
| Labeau | Bhétý | Technicienne (sérologie) | BTS | IP Guyane | 0.9 |
| Brémand | Laetitia | Technicienne (Biol mol) | BTS | IP Guyane | 0.2 |
| Cabanne | Léa | Technicienne (à partir de juillet .2024) | BTS | IP Guyane | 0.6 |
| Lagrange | Alisé | Ingénieur | Ingénieur | IP Guyane | 0.6 |
| Tirera | Sourakhata | Bioinformaticien | PhD | IP Guyane | 0.05 |
| Briand | Dominique | Secrétaire | | IP Guyane | 0.4 |

CNR-LA-LR

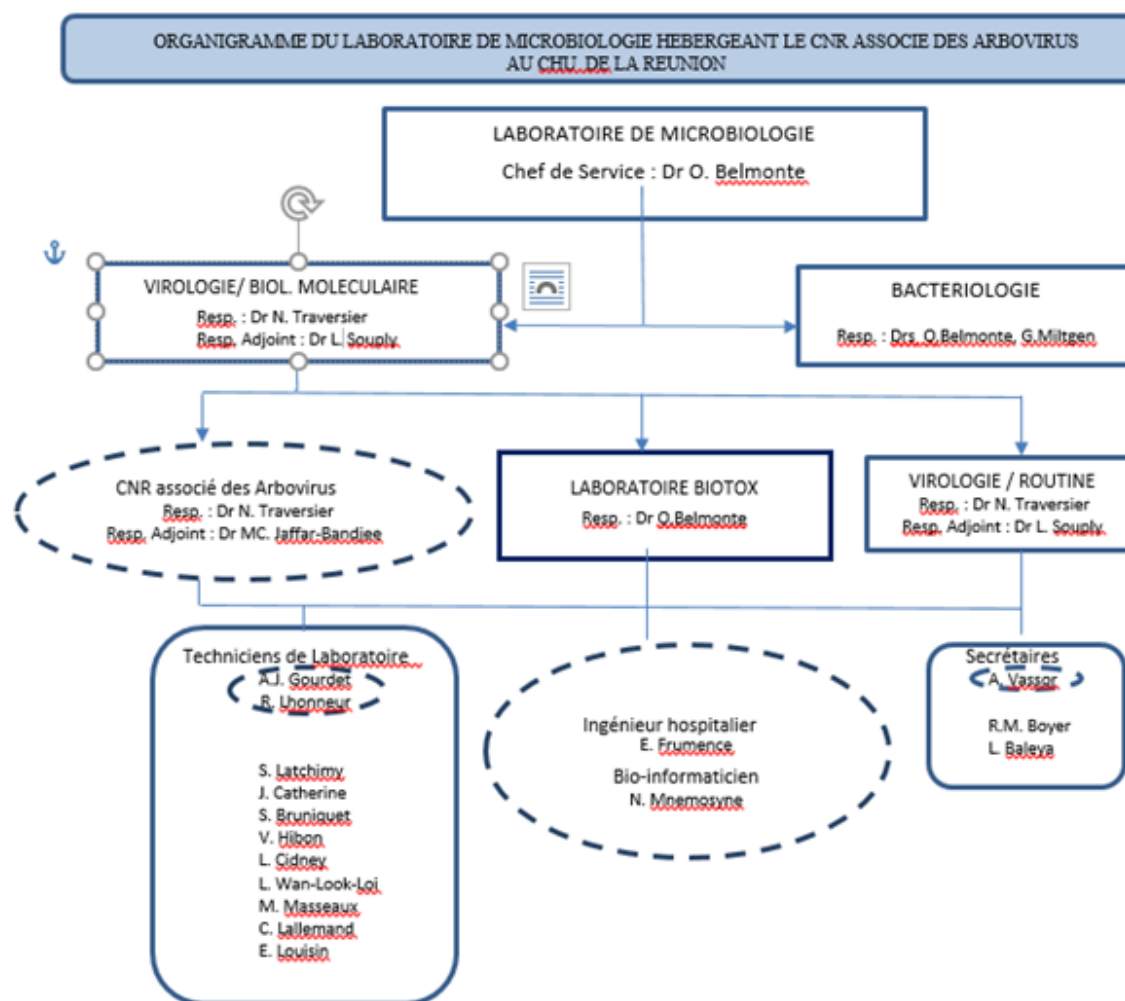


Figure 3. Organigramme du CNR Arbovirus, laboratoire associé La Réunion en 2024.

Tableau 3 : Effectifs et ETP du CNR-LA-LR en 2024

| 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 |
| Gourde | Anne-Julie | Technicienne de laboratoire | BTS | CHU | 1 |
| Lhonneur | Rubens | Technicien de laboratoire | BTS | CHU | 1 |
| Mnémosyme | Nicolas | Bioinformaticien | M. Sc | CHU | 0.20 |

Voir Annexe 1.

Démarche Qualité

CNR-METROPOLE

Le laboratoire est accrédité par le COFRAC (n° d'accréditation 8-4083) selon la norme NF EN ISO 15189 depuis 2018 en portée B flexible pour les analyses suivantes présentée dans le tableau 4.

Tableau 4. Portée détaillée du CNR-METROPOLE (ISO 15186)

| BM VB01 - BIOLOGIE MEDICALE / MICROBIOLOGIE / VIROLOGIE SPÉCIALISÉE | | | | |
|--|---|--|--|---|
| Site(Site) | Examen / analyse (Examination / analysis) | Nature de l'échantillon biologique/de la région anatomique(Nature of the biological sample/of the anatomical region) | Principe de la méthode(Principle of the method) | Nature de l'évolution (ajout, changement affectant les performances de la méthode, ...) et Remarque(Remarks) |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Dengue | plasma, sérum | Extraction sur automate E22 Qiagen ou manuelle (QIAamp Viral RNA Mini Kit). Amplification sur N= 2 thermocycleurs CFX Bio Rad | Accrédité depuis le 01/01/2018 avec la méthode d'extraction manuelle. Ajout de l'automate d'extraction E22 Qiagen et changement de procédure d'amplification au 11/03/2024. |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Zika | plasma, sérum, urine, | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 20/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Dengue | plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/06/2023 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Fièvre Jaune | plasma, sérum, urine | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Chikungunya | plasma, sérum | Extraction sur automate E22 Qiagen ou manuelle (QIAamp Viral RNA Mini Kit). Amplification sur N= 2 thermocycleurs CFX Bio Rad | Accrédité depuis le 01/01/2018 avec la méthode d'extraction manuelle. Ajout de l'automate d'extraction E22 Qiagen et changement de procédure d'amplification au 11/03/2024. |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR encéphalite japonaise | plasma, sérum, urine | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 29/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Toscana | plasma, sérum, urine | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 16/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Chikungunya | plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/06/2023 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther West Nile | plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/06/2023 |
| BM MG01 - BIOLOGIE MEDICALE / MICROBIOLOGIE / MICROBIOLOGIE GÉNÉRALE | | | | |
| Site(Site) | Examen / analyse (Examination / analysis) | Nature de l'échantillon biologique/de la région anatomique(Nature of the biological sample/of the anatomical region) | Principe de la méthode(Principle of the method) | Nature de l'évolution (ajout, changement affectant les performances de la méthode, ...) et Remarque(Remarks) |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Dengue CNR "maison" | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) manuelle | Accrédité depuis le 01/01/2018 |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Dengue Euroimmun | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) automatisée avec coffrets Euroimmun et N=2 automatés Euroimmun I2P | Ajout le 26/06/2023 |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Chikungunya CNR "maison" | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) manuelle | Accrédité depuis le 01/01/2018 |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Chikungunya Euroimmun | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) automatisée avec coffrets Euroimmun et N=2 automatés Euroimmun I2P | Ajout le 26/06/2023 |

Le laboratoire a été audité par le Cofrac les 27 et 28 mars 2024. Ce fut le premier audit de cette mandature. Ainsi de nombreux éléments avaient évolués depuis le dernier audit, aussi bien organisationnels que techniques. Les points forts soulignés par les évaluateurs étaient :

- Maîtrise globale du SIL IRBA : Développements adaptés aux besoins et aux évolutions, réactivité dans les mises à jour (à venir : recueil des non-conformités pré-analytiques permettant de déployer de nouveaux indicateurs qualité pré-analytiques, pré-saisie des fiches de renseignements cliniques).
- Le suivi des fiches d'action corrective ou préventive est réalisé de façon contentieuse et pertinente.
- Toutes les réclamations émanant de l'enquête satisfaction ont été traitées individuellement et nominativement. Les réponses sont disponibles dans le rapport accessible sur le site internet.
- Checklists pour accueil des nouveaux arrivants, réunions mensuelles, vérification qualité hebdomadaire (Listes de vérification)
- Depuis juillet 2023, le CNR Arbovirus réalise un suivi génomique de la circulation du virus de la dengue, en particulier dans les Antilles

Trois écarts ont été notifiés :

1. Un non critique concernant des éléments manquant dans le dossier de validation de méthode de l'automate Euroimmun. Cet écart a été requalifié critique par le cofrac à posteriori. La réponse apportée par le CNR-METROPOLE a permis de lever cet écart.
2. Un non critique concernant la gestion des incertitudes de mesures pour les tests ELISA en sérologie manuelle
3. Un non critique concernant une pipette en retard de vérification

Le laboratoire a obtenu l'accréditation selon la norme ISO 15189 version 2022, valide jusqu'au 28 février 2026.

Le CNR-METROPOLE a également organisé une enquête de satisfaction en janvier 2024, dont les résultats ont été publiés sur le site internet <https://cnr-arbovirus.fr> en apportant les réponses aux questions et commentaires qui ont été soulevés.

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).

Suite au dernier audit Cofrac de juillet 2023, le laboratoire a obtenu le renouvellement de son accréditation jusqu'au 30/09/2028 (attestation d'accréditation N°8-3373 rev.13). En 2024, le laboratoire a évolué vers la norme NF EN ISO 15189 version 2022. Par ailleurs, les techniques de détection des génomes du Chikungunya et du Zika ont été multiplexées et cette multiplex a été accréditée.

Le prochain audit COFRAC (audit de surveillance et de transition vers la nouvelle norme) est prévu en février 2025.

CNR-LA-LR

Audit COFRAC : RAPPORT D'EVALUATION N° 374B84 V00 du 10/10/24 : confiance accordée sur l'extension demandée au service de biologie moléculaire de microbiologie (MICROBIOBM) ligne MG06 pour le séquençage SARS-COV-2 selon norme ISO 15189 version 2012.

Le laboratoire est engagé dans l'application de la nouvelle norme ISO 15189 version 2 et sera audité en surveillance en février 2025 sur cette nouvelle version. La sensibilisation du personnel est en cours sur cette nouvelle norme. Un plan de continuité d'activité de soins est également en cours de rédaction, et les notions de confidentialité, impartialité et application des règles de protection des données personnelles sont notamment intégrées aux nouvelles conventions avec les LABM et mis en avant dans la pratique quotidienne.

2. Activités d'expertise

2.1 Évolution des techniques

CNR-METROPOLE

Évolution des méthodes diagnostiques

Liste des techniques disponibles au CNR en Annexe 2.

Pendant l'année 2024, plusieurs systèmes RT-qPCR ont été mis en place en routine grâce à l'adaptation de systèmes d'amorces et sondes 'maison' aux cartouches Panther Fusion (HOLOGIC). En particulier, les systèmes suivants sont maintenant utilisés en routine (en plus de ceux couverts par l'accréditation COFRAC, Tableau 4) : TBEV, SINV, RRV, EEEV, WEEV, SLEV, MVEV, MAYV, ONNV, RVFV, TONV, CCHFV, typage monoplex DENV, SFSV, OROV.

Afin d'optimiser le nombre des tests réalisés en routine, le développement de systèmes combinés (plusieurs systèmes testés dans la même réaction PCR) a été initié, pour que les systèmes soient mis en place en routine en début 2025 : CHIMATO (CHIKV, MAYV, TONV) pour l'Amérique Latine, CHIKORI (CHIKV, ONNV, RVFV) pour l'Afrique, CHIKROSS (CHIKV, RRV) pour l'Asie du sud-est et l'Océanie, EEVSLEV (EEEV, WEEV, VEEV, SLEV) pour le continent Américain. En 2025, les tests combinés contenant le système CHIKV seront couverts par accréditation COFRAC.

Le kit commercial Altona WNV a également été intégré en complément du système WNV Duo maison, afin de confirmer les échantillons positifs avec faible charge virale ou exploration de la distinction entre les virus West Nile et Usutu. Cette utilisation sera facilitée en 2025 par la mise à disposition de la part d'Altona d'un automate AltoStar afin d'automatiser ces tests.

Pour répondre rapidement à l'épidémie de OROV en cours en Amérique Centrale et du sud depuis début 2024, le CNR a mis en place en routine le système de détection par RT-qPCR OROV sur Panther Fusion, utilisé depuis mai 2024 en routine sur tous les échantillons de voyageurs de retour d'Amérique. En complément, le kit EUROIMMUN OROV IgM et IgG (Research Use Only) est également utilisé pour les suspicions d'Oropouche. Cela a permis d'identifier 6 cas de OROV de retour de Cuba en 2024.

Suite à l'évaluation des kits Eurobio VIRCLIA® MONOTEST (CHIKV IgM et IgG, DENV IgM et IgG, ZIKV IgM et IgG, WNV IgM et IgG, TBEV IgM et IgG) depuis mai 2024, ces tests sont utilisés en deuxième ligne pour confirmation des cas suspects, en particulier autochtones ou donneurs de produits issus du corps humain.

Autres évolutions techniques

En 2024, le laboratoire s'est doté en juillet d'une fiche de renseignement numérique, permettant la saisie des informations sur le site internet. En moyenne en 2024, 5% des dossiers reçus étaient renseignés via le portail numérique.

Les coordonnées téléphoniques ont également changé avec la mise en place d'un serveur téléphonique. Cette solution a été déployée compte tenu du fait que (i) le laboratoire n'arrive pas à recruter un(e) secrétaire (ii) le laboratoire est difficilement joignable (cf résultat de l'enquête de satisfaction) (iii) 90% des questions posées par les appelants peut recevoir une réponse automatisée car correspond à une information présente dans notre manuel de prélèvement (Tableau 5).

Tableau 5. Moyenne des appels reçus au laboratoire coordonnateur par jour

| | No appel | No appel / jour ouvré |
|-----------|----------|-----------------------|
| Juillet | 108 | 5.4 |
| Aout | 153 | 7.65 |
| Septembre | 146 | 7.3 |
| Octobre | 167 | 8.35 |
| Novembre | 129 | 6.45 |
| Décembre | 126 | 6.3 |

CNR-LA-IPG

En 2024, mise en place de nouvelles techniques :

- Détection des virus Chikungunya et Zika par RT-qPCR multiplex et accréditation
- Séquençage complet du génome des virus Dengue 1 et Dengue 4, technologie Oxford Nanopore (NGS-MinION)

CNR-LA-LR

En 2023-24, la technique « maison » PCR triplex chik/dengue/leptospirose a été optimisée afin d’améliorer la sensibilité de détection sur la dengue. Ce défaut de sensibilité a été détecté sur les résultats d’EEQ QCMD2023 (1 échantillon core non détecté en dengue de type 2 et 2 échantillons éducatifs non détectés en dengue type de 1 et de type 3) et a fait l’objet d’un écart lors de l’audit COFRAC (écart LC001).

Une optimisation satisfaisante de la sensibilité de la technique PCR « maison » a été obtenue en doublant le volume d’extrait à 5 µl et en utilisant un filtre plus adapté pour la lecture du fluorochrome HEX passant de 533-610 nm à 533-580 nm (LightCycler 480 Roche).

L’optimisation de la technique « maison » a été faite comparativement avec la technique simplex du CNR coordonnateur (DENV Duo FAM). Les tests ont été réalisés sur 4 échantillons de DENV1, DENV2, DENV3 et DENV4 en triplicat. La sensibilité des techniques a été évaluée à partir de dilutions limites d’ARN Dengue contrôle du CNR coordonnateur (DENV Armored RNA, disponible sur <https://evam.european-virus-archive.com>). Les EEQ QCMD en défaut avec la technique « maison » initiale ont également été réanalysés (résultats conformes).

La mise en place de la technique optimisée au CNR-LR a été effective à partir d’avril 2024.

2.2 Travaux d’évaluation des techniques, réactifs et trousse

CNR-METROPOLE

1. Évaluation des kits VIRCLIA Monotests Arbovirus

En 2023, le CNR-METROPOLE a entamé l’évaluation de dix kits sérologiques Eurobio VIRCLIA® MONOTEST (CHIKV IgM et IgG, DENV IgM et IgG, ZIKV IgM et IgG, WNV IgM et IgG, TBEV IgM et IgG). Les tests et analyses

associés ont été finalisés en 2024. Les évaluations ont été faites en collaboration avec différents CHU. Ces tests, basés sur le principe de la chimiluminescence indirecte, ont été réalisés sur l'automate VIRCLIA Lotus.

La sensibilité des kits VIRCLIA monostests a été évaluée en utilisant des échantillons positifs bien caractérisés.

Nombre d'échantillons testés : 20 WNV IgM et 13 WNV IgG, 12 CHIKV IgM / IgG, 10 ZIKV IgM / IgG, 12 DENV IgM et 10 DENV IgG et 11 TBEV IgM / IgG

La spécificité des kits VIRCLIA monostests a été évaluée sur trois catégories d'échantillons :

- Sérums avec des facteurs interférents potentiels (positifs pour d'autres pathogènes) : 9 à 13 échantillons avec facteur rhumatoïde, CMV, paludisme, HCV, HAV, HBV
- Sérums pédiatriques attendus négatifs en sérologie : 12 échantillons attendus négatifs
- Sérums avec réactivité croisée : 18 échantillons positifs en dengue testés avec VIRCLIA® IgM MONOTEST WNV, ZIKV, CHIKV et TBE



La technique VIRCLIA monostest a présenté une sensibilité élevée : 100% pour CHIKV, WNV, ZIKV, TBEV IgM et IgG, 100% pour DENV IgG et 91.6% pour DENV IgM.

| | IgM | IgG |
|-------|-------|------|
| DENV | 91,6% | 100% |
| WNV | 100% | 100% |
| CHIKV | 100% | 100% |
| ZIKV | 100% | 100% |
| TBEV | 100% | 100% |

Pour les sérums avec des facteurs interférents potentiels, aucune réactivité croisée n'a été observée avec les kits VIRCLIA IgG CHIKV, DENV, ZIKV, TBEV et IgM TBEV ; des résultats faux positifs ont été obtenus avec les kits IgM CHIKV, ZIKV, WNV et DENV.

Les sérums pédiatriques n'ont donné aucun positif avec les kits TBEV IgM et IgG, et WNV IgG ; un résultat faux positif a été identifié avec le kit WNV IgM.

Un total de 18 échantillons positifs en DENV IgM a montré une discrète réactivité croisée avec les kits WNV IgM (9 échantillons), ZIKV IgM (3 échantillons) ; aucune réactivité croisée n'a été identifiée avec les kits CHIKV et TBEV IgM.

| | DENV | | WNV | | CHIKV | | ZIKV | | TBEV | |
|---------------------------|--------|------|-------|------|-------|------|------|------|------|------|
| | IgM | IgG | IgM | IgG | IgM | IgG | IgM | IgG | IgM | IgG |
| Facteurs Interférents | 88,90% | 100% | 77% | 85% | 56% | 100% | 50% | 100% | 100% | 100% |
| Échantillons pédiatriques | - | - | 91,7% | 100% | - | - | - | - | 100% | 100% |

| | | | | | | | | | | |
|--|---|---|-----|---|------|---|-------|---|------|---|
| Échantillons avec réactivité croisée (DENV+) | - | - | 50% | - | 100% | - | 83,3% | - | 100% | - |
|--|---|---|-----|---|------|---|-------|---|------|---|

Ces résultats mettent en lumière des problèmes de manque de spécificité : des infections en cours par des agents pathogènes autres que des arbovirus (plasmodium, CMV...) peuvent causer des résultats faux positifs dans la détection d'IgM. Ces difficultés ne sont pas spécifiques des tests VIRCLIA® et ont de mêmes été observés avec plusieurs autres kits sérologiques pour la détection des arbovirus. Ces résultats doivent être interprétés avec précaution au vu de l'effectif réduit utilisé pour l'évaluation de ces kits. Les résultats sérologiques sans confirmation par séroneutralisation ou biologie moléculaire doivent être interprétés avec prudence en tenant compte du contexte épidémiologique, de la répartition géographique, du background sérologique (précédentes arboviroses et/ou vaccination pour les arbovirus) et des signes cliniques.

Les résultats sont disponibles sur le site web CNR.

2. Évaluation de kit VIDAS Dengue virus NS1

Afin d'évaluer les performances du test VIDAS® Dengue NS1 Ag pour la détection directe de la protéine NS1 du virus de la dengue, en 2024 le CNR a réalisé une première étude analytique, qui sera suivie en 2025 par une étude prospective sur échantillons cliniques.

L'objectif principal de la première étude est de comparer les performances analytiques du test VIDAS® avec celles de deux autres méthodes : le test rapide SD Bioline® et le test ELISA NS1 Euroimmun. Pour ce Les échantillons incluant des protéines NS1 recombinantes des quatre sérotypes du DENV, des flavivirus apparentés (ZIKV, YFV, TBEV, WNV, JEV), ainsi que des sérums de patients atteints d'autres infections (CMV, EBV, Plasmodium) ou de pathologies hématologiques malignes. Des sérums négatifs qualifiés seront également intégrés à l'analyse.

L'étude est structurée en trois étapes :

- Évaluation initiale : Détermination de la limite de détection des tests via des dilutions en série des antigènes DENV (x5), et étude de la spécificité croisée avec les protéines NS1 d'autres flavivirus et échantillons présentant d'éventuels facteurs interférents (autres pathologies).
- Affinement de la précision : Réalisation de dilutions supplémentaires (x2) en triplicat pour affiner la sensibilité analytique des tests.
- Analyse de la réactivité croisée : si nécessaire, exploration approfondie de la réactivité croisée par des tests supplémentaires ciblés.

Les résultats permettent de positionner le test VIDAS® NS1 comme un outil diagnostique robuste dans le contexte de la détection précoce du virus de la dengue.

- Le test VIDAS® NS1 se distingue par une sensibilité analytique supérieure, détectant des concentrations très faibles de NS1 jusqu'à 0,00625 ng/100 µL pour DENV1 et 0.025 ng/100 µL pour DENV2-3-4.
- Le test rapide SD Bioline® montre une détection correcte jusqu'à 0,5 ng/100 µL, mais semble moins performant au-delà.
- Le test Euroimmun ELISA présente une sensibilité intermédiaire, avec une détection correcte jusqu'à 0,5 ng/100 µL.

Ces résultats confirment l'intérêt du test VIDAS® dans un contexte de diagnostic précoce et sensible des infections à dengue, en particulier pour des cas à faible virémie ou en début d'infection.

SD Bioline® (test rapide) : évaluation de la spécificité

Réactivité croisée observée pour JEV, TBEV et WNV, avec des résultats positifs jusqu'à 0,05 ng/100 µL spécificité limitée vis-à-vis de ces flavivirus.

Seul le ZIKV et FJ ne présente pas de réactivité croisée, même à la concentration la plus élevée testée (5 ng/100 µL), indiquant une bonne spécificité pour ce virus.

VIDAS® NS1– Spécificité

Réactivité croisée observée seulement avec WNV (jusqu'à 0,5 ng/100µl)

Cela suggère que VIDAS® présente une meilleure spécificité que, SD Bioline avec une réactivité croisée limitée.

Euroimmun NS1 ELISA – Spécificité

Très bonne spécificité observée : aucun résultat positif sauf pour WNV à la dilution 1 ng/100µl qui est limite.

Cela indique une spécificité élevée du test Euroimmun vis-à-vis des flavivirus non-DENV.

Les sérums de patients atteints de CMV ou d'EBV, ainsi que les sérums négatifs qualifiés, se sont révélés négatifs pour l'ensemble des tests.

Les résultats de cette étude démontrent que le test VIDAS® NS1 présente une sensibilité supérieure, en faisant un outil performant pour le diagnostic précoce de la dengue. Toutefois, une réactivité croisée avec le WNV limite légèrement sa spécificité.

Le test Euroimmun ELISA, bien que légèrement moins sensible, offre une excellente spécificité, tandis que le test rapide SD Bioline® affiche des performances intermédiaires, avec une spécificité plus variable.

Dans l'ensemble, chaque test présente des avantages spécifiques selon le contexte d'utilisation.

3. Evaluation de kit Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR sur BeGenius (ELITech)

Le kit Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV a fait l'objet d'une évaluation sur échantillons cliniques afin de déterminer la sensibilité du kit en fonction des matrices testées ainsi que la spécificité, en comparaison avec les tests DENV Duo, CHIKV Duo et ZIKV Duo utilisés en routine au CNR.

Un total de 24 échantillons positifs en PCR pour le virus chikungunya (CHIKV) avec la technique de référence au CNR arbovirus (Panther Fusion – HOLOGIC) ont été sélectionnés pour être testés avec le triplex Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur l'automate BeGenius (ELITech). Bioperfectus a bien identifié les 24 échantillons positifs en PCR CHIKV (sensibilité 100%). Aucun faux positif CHIKV n'a été identifié sur les échantillons positifs en PCR DENV ou ZIKV (spécificité 100%).

Un panel de 38 échantillons positifs en PCR avec la technique CNR (Panther Fusion – HOLOGIC) pour le virus de la dengue (DENV1-4) a été testé avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur BeGenius (ELITech) ; les 38 échantillons du panel ont été correctement identifiés avec le kit Bioperfectus (sensibilité 100%). Aucun faux positif DENV n'a été identifié sur les échantillons positifs pour CHIKV ou ZIKV (spécificité 100%).

Vingt échantillons positifs en PCR avec la technique CNR (Panther Fusion – HOLOGIC) pour le virus Zika (ZIKV) ont été testés avec Bioperfectus ZIKV/DENV/CHIKV real-time PCR kit sur BeGenius (ELITech) ; 15 échantillons ont été détectés positifs par Bioperfectus, et 5 faux négatifs ont été observés (sensibilité 75%). Un faux positif en PCR ZIKV a été identifié avec le kit Bioperfectus sur un échantillon du panel qui était positif en PCR CHIKV (spécificité 98%).

Les résultats sont également disponibles sur le site web CNR.

4. Évaluation de kit WNV ELITE MGB sur BeGenius (ELITech)

Le kit WNV ELITE MGB a fait l'objet d'une évaluation analytique afin de déterminer la sensibilité et la spécificité du kit, en comparaison avec le test WNV Duo utilisé en routine au CNR.

Deux souches de WNV (lignage 1 et 2) ont été spikées dans du plasma, des gammes de dilution ont été réalisées puis testées en parallèles avec WNV ELITE MGB kit sur l'automate BeGenius (ELITech) et sur Panther Fusion – HOLOGIC (technique de référence au CNR). Pour le lignage WNV 1, le kit WNV ELITE a montré une sensibilité légèrement inférieure au Panther, mais aucune différence de sensibilité n'a été observée pour le lignage 2.

Nous avons également évalué la spécificité du kit WNV ELITE vis à vis du virus Usutu, phylogénétiquement proche du virus WN, et potentiellement à l'origine de faux positifs en PCR comme observé avec la technique de DGV de l'EFS. Aucun faux positif n'a été observé avec le kit WNV ELITE

Les résultats sont également disponibles sur le site web CNR.

CNR-LA-IPG

Non applicable en 2024

CNR-LA-LR

Évaluation : Parallèlement à l'optimisation de la technique « maison » PCR triplex chik/dengue/lepto (Cf ci-dessus) les kits réactifs Certest VIASURE et Altona Diagnostics RealStarR RT PCR Kit RUO 3.0 ont été évalués.

- Kit Certest VIASURE (multiplex Zika, dengue, chikungunya) : La comparaison du kit réactif multiplex Certest avec la technique « maison » PCR triplex (avant optimisation) sur le thermocycleur QS5 d'Applied Biosystems n'a pas mis en évidence de différence significative vis-à-vis de la détection de la dengue et a montré une sensibilité moindre du kit Certest vis à vis du chikungunya.
- Kit Altona Diagnostics, RealStarR RT PCR Kit RUO 3.0 (simplex Dengue) : le kit Altona a été évalué par le CNR-LR avec les mêmes échantillons que pour l'optimisation de la technique PCR « maison » (4 échantillons de DENV1, DENV2, DENV3 et DENV4 en triplicate et EEQ QCMD). Le kit Altona a montré de très bons résultats en termes de sensibilité et d'interprétation des résultats.
- Automate M10 (Eurobio) – Arbovirus panel (dengue, zika, chikungunya, fièvre jaune et WNV) : Le kit réactif arbovirus panel (test unitaire, PCR multiplex) a été évalué par le CNR-LR. Cette évaluation a été motivée par la nécessité de rendre des résultats de PCR dengue en urgence dans le cadre de la qualification des dons d'organe et des receveurs de greffes rénales et cardiaques. L'automate M10 a montré de très bons résultats à partir de dilution des différents sérotypes de virus de la dengue dans le plasma et les urines (comparaison avec la technique « maison » triplex Dengue/chik/lepto).

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

CNR-METROPOLE

Suite aux alertes sur le risque d'émergence du virus Oropouche dans les départements français des Amériques, le CNR-METROPOLO a apporté son expertise et son soutien aux laboratoires des Antilles. Suite à leur demande en septembre 2024, le système RT-qPCR OROV ainsi que son témoin positif et le protocole ont été transférés au CHU de Guadeloupe (300 tests), CHU de Martinique (300 tests) et Institut Pasteur Guadeloupe (500 tests) afin d'améliorer leur préparation à une éventuelle épidémie de OROV.

Le CNR a été sollicité par plusieurs laboratoires français intéressés par l'utilisation des systèmes RT-qPCR maison adaptés au Panther Fusion (HOLOGIC) utilisés en routine CNR, en particulier CHIKV, ZIKV, DENV, WNV et TBEV. En 2024, en collaboration avec la plateforme EVAM (European Virus Archive Marseille), le CNR a transféré les systèmes lyophilisés, les témoins positifs, les contrôles qualités et les modes opératoires aux centres hospitaliers de Limoges, Lille, Angers, Strasbourg, Clermont-Ferrand, Dijon, Paris Mondor, Paris Bichat, Orléans, Nantes, Toulon, ainsi qu'au laboratoire privé BPR de Pannes. Cette démarche a permis à ces laboratoires de devenir autonomes ou de se renforcer dans la recherche par RT-qPCR des principaux arbovirus.

Dans le cadre de l'évaluation des tests sérologiques Euroimmun et VirCLIA, le CNR Métropole a transmis des sérums positifs en IgM et/ou IgG dirigés contre différents arbovirus à plusieurs centres hospitaliers (Lille, Limoges, Nice, Poitiers et Tours). Cette démarche a contribué à la mise en place des tests sérologiques dans leurs laboratoires respectifs.

Tableau 6. Répartition des échantillons de sérums positifs (IgM et/ou IgG) envoyés par le CNR à différents centres hospitaliers dans le cadre de l'évaluation des test sérologiques Euroimmun et VirCLIA.CNR-LA-IPG

| Centre Hospitalier | DENV IgM/IgG Positifs | CHIKV IgM/IgG Positifs | TBE IgM/IgG Positifs | WNV IgM/IgG Positifs |
|--------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| CHU de Lille | 8 | — | — | — |
| CHU de Nice | 10 | 5 | 2 | — |
| CHU de Tours | 10 | 5 | 2 | — |
| CHU de Poitiers | — | — | — | 6 |
| CHU de Limoges | 5 IgM / 4 IgG | — | — | 9 |

En décembre 2024, envoi d'un panel d'échantillons dengue (D1, D2, D3 et D4) et Zika, et aide à la mise en place et à l'accréditation de la technique RT-qPCR de typage dengue à l'Institut Pasteur de la Guadeloupe

CNR-LA-LR

Nous avons aidé les laboratoires privés Cerballiance et Inovie à valider leur technique de RT-PCR multiplex Chik/Dengue/leptospirose en leur procurant des témoins positifs et en participant à la comparaison de leur méthode avec la nôtre.

2.4 Collections de matériel biologique

CNR-METROPOLE

Voir détail en annexe 4.

En 2024, le laboratoire a mis en culture 725 échantillons biologiques (sérum 66%, plasma 18%, urine 8%, écouvillons 6%, autre 2%), soit 329 de plus qu'en 2023 (x1,80). Au total, un virus a été isolé pour 138 prélèvements biologiques (89 en 2023) : sérum 73%, plasma 24%, autre 3% (Figure 4). Les types cellulaires ayant permis d'isolement étaient les cellules C6/36 et Vero (Figure 5). Le pays d'acquisition de ces souches est présent dans le Tableau 7. Les souches ainsi ajoutées à la collection biologique sont donc : DENV-1 (n=29), DENV-2 (n=71), DENV-3 (n=22), DENV-4 (n=2), TOSV (n=1), WNV (n=5), ZIKV (n=1).

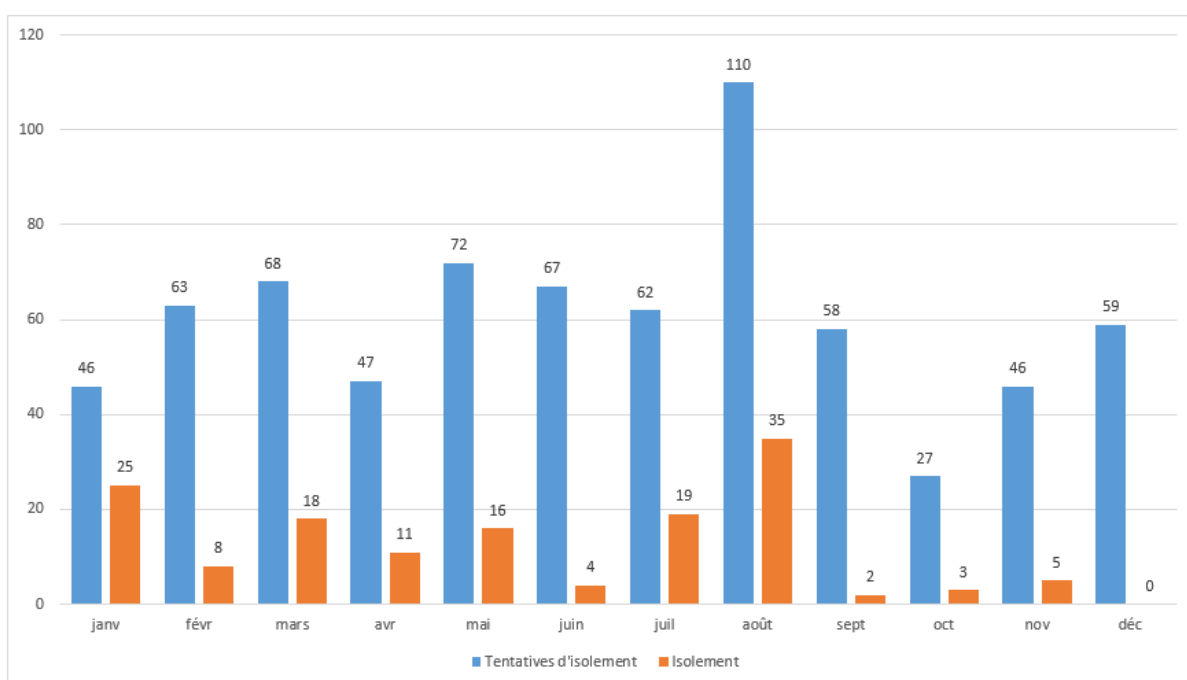


Figure 4. Isolements et tentatives d'isolement viral en 2024

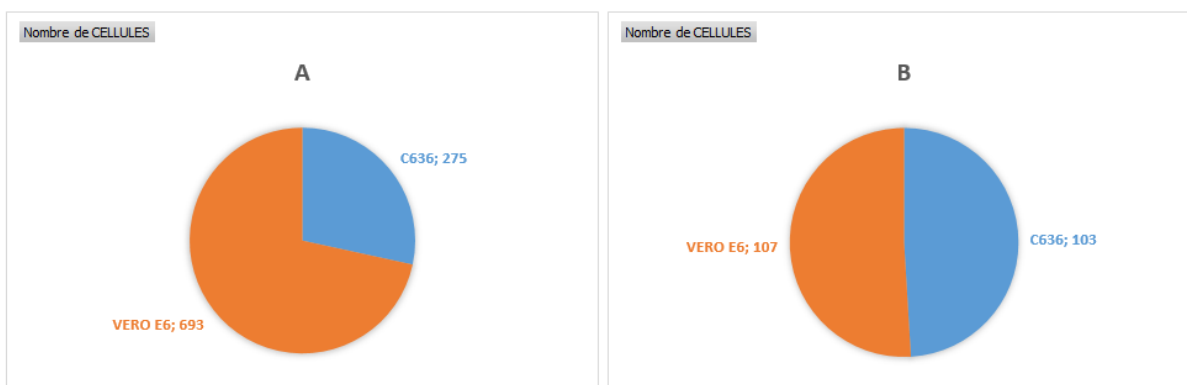


Figure 5. Cellules utilisées pour l'isolement viral. A. total des isolements B. isolements réussis.

Tableau 7. Pays d'acquisition des souches isolées au CNR métropole en 2024

| Pays d'infection | CHIKV | DENV1 | DENV2 | DENV3 | DENV4 | WNV | ZIKV | TOSV | TOTAL |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|------|------|-------|
| France (Métropole) | | 8 | 3 | 2 | | 10 | | 1 | 24 |
| Brésil | | 5 | 7 | | | | | | 12 |
| Cameroun | | 2 | 1 | 1 | | | | | 4 |
| Caraïbes | | | 4 | | | | | | 4 |
| Costa Rica | | | 6 | | 1 | | | | 7 |
| Cote d'Ivoire | 6 | 1 | 1 | 3 | | | | | 11 |
| Cuba | | | | 2 | 2 | | | | 4 |
| Djibouti | | | | 2 | | | | | 2 |
| Emirats Arabes Unis | | | 2 | | | | | | 2 |
| Guadeloupe | | | 15 | 10 | | | | | 25 |
| Guatemala | | | | 2 | | | | | 2 |
| Guyane | | | 11 | 5 | | | | | 16 |
| Inde | | 2 | 3 | | | | | | 5 |
| Indonésie | | 6 | 13 | 4 | | | | | 23 |
| Laos | | | 1 | | | | | | 1 |
| Malaisie | | | | 1 | | | | | 1 |
| Maldives | | | 1 | 2 | | | | | 3 |
| Mali | | 3 | | | | | | | 3 |
| Martinique | | | 29 | 1 | | | | | 30 |
| Maurice | | | 4 | | | | | | 4 |
| Philippines | | 2 | | | | | | | 2 |
| Polynésie Française | | 8 | | | | | | | 8 |
| Rep Dominicaine | | | | 4 | | | | | 4 |
| Saint Barthelemy | | | 2 | | | | | | 2 |
| Saint Martin | | | 5 | | | | | | 5 |
| Italie | | | 2 | | | | | | 2 |
| Sénégal | | 6 | | | | | | | 6 |
| Seychelles | | | | | | | 1 | | 1 |
| Thaïlande | | 1 | 2 | 1 | | | | | 4 |
| Togo | | 2 | | | | | | | 2 |
| Trinite et Tobago | | | 2 | | | | | | 2 |
| Vietnam | | 2 | 4 | | | | | | 6 |
| Origine inconnue | | 1 | 11 | | | | | | 12 |
| Total | 6 | 49 | 129 | 40 | 3 | 10 | 1 | 1 | 239 |

Chiffres exprimés en nombre d'échantillons biologiques différents et non en nombre de patient.

Une souche de virus Zika a été isolée du sérum d'un patient à J+6 de son retour des Seychelles. Dix souches de virus West Nile ont été isolées de 4 patients : trois donneurs de sang ayant présentés un DGV positifs, et un patient ayant présenté une forme neurologique, pour lequel le virus a été isolé dans le sang total, le sérum, le plasma, les urines et le LCR. Enfin, une souche de Toscana a été isolée du sérum d'un patient résidant dans les Bouches du Rhône, ayant présenté une méningite.

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

Toutes les souches isolées sont mises à disposition de la communauté scientifique via la plateforme EVAg (European Virus Archive - Global).

CNR-LA-IPG

L'organisation, les conditions de stockage et de mise à disposition des collections de matériel biologique sont présentées dans l'annexe 4

En 2024, les collections du CNR-LA-IPG se sont enrichies de 13 isolats :

- 6 isolats d'Orthobunyavirus du séro groupe C obtenus sur cellules Vero à partir d'échantillons de sérum détectés positifs en RT-qPCR OBV SGC.
- 4 isolats de virus Dengue 3 obtenus sur cellules Vero à partir d'échantillons prélevés entre novembre 2020 et janvier 2024.
- 3 isolats de virus Mayaro obtenus sur cellules C6-36 à partir d'échantillons prélevés en février 2024.

40 tentatives d'isolements (sur cellules Vero et cellules C6-36) ont été réalisées en 2024, 20 à partir d'échantillons de la surveillance négatifs pour l'ensemble des PCR réalisées et 20 à partir d'échantillons détectés positifs en RT-qPCR (11 OBV, 5 Dengue 3 et 4 Mayaro). Des isolements viraux n'ont été obtenus qu'à partir d'échantillons positifs en RT-qPCR (13/20).

CNR-LA-LR

En 2024, notre collection s'est enrichie de :

- 8 souches de CHIKV Réunion 2024
- 46 souches de DENV de la Réunion et de Mayotte

2.5 Activités d'expertises

CNR-METROPOLE

1 Résultats quantitatifs

En 2024, le CNR métropole a reçu un total 9535 échantillons biologiques et a analysé 6452 échantillons, concernant 5324 patients, ce qui est comparable à l'année précédente (Figure 6, 7). En moyenne, le laboratoire a reçu 22 dossiers par jour (min 13 en janvier, maximum 32 en septembre), ce qui correspond à une moyenne de 38 échantillons par jour (min 2, max 104).

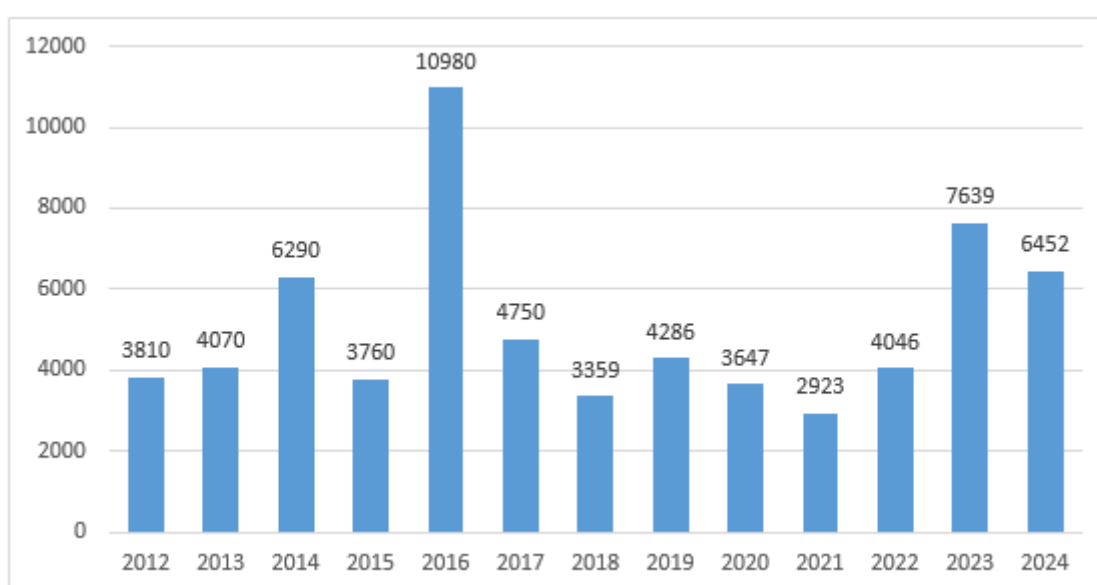


Figure 6. Nombre total de prélèvements analysés au CNR métropole en 2024, en comparaison des années précédentes.

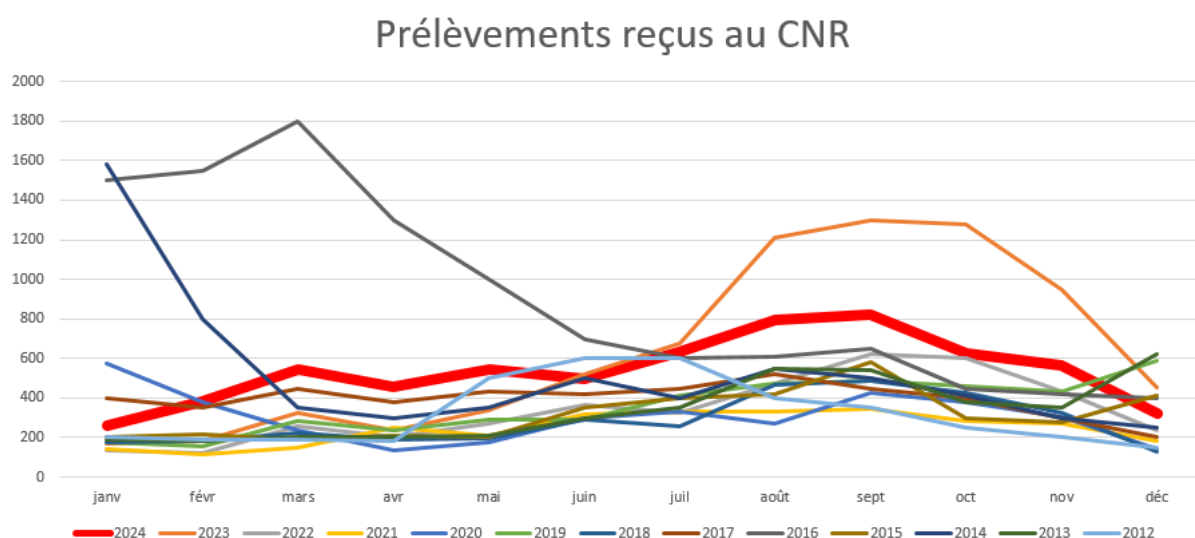


Figure 7. Nombre de prélèvements reçus par mois de l'année. Rouge = 2024

Les prélèvements reçus étaient principalement du sérum (41%) ainsi que du plasma (25%) et du sang total (20%) (Figure 8). L'origine des prélèvements (Figure 9), comme l'année précédente est représentée majoritairement par les CHU, CH et LABM.

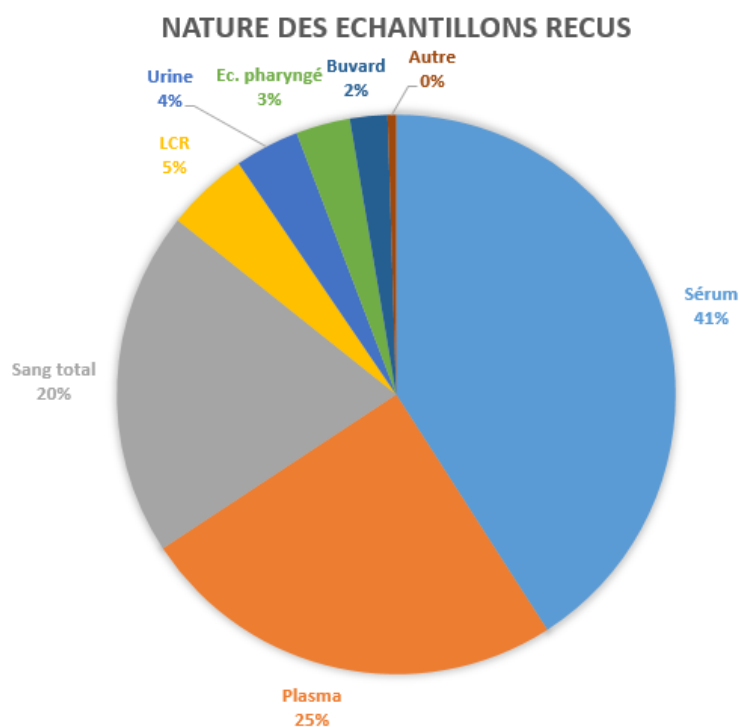


Figure 8. Nature des prélèvements reçus.

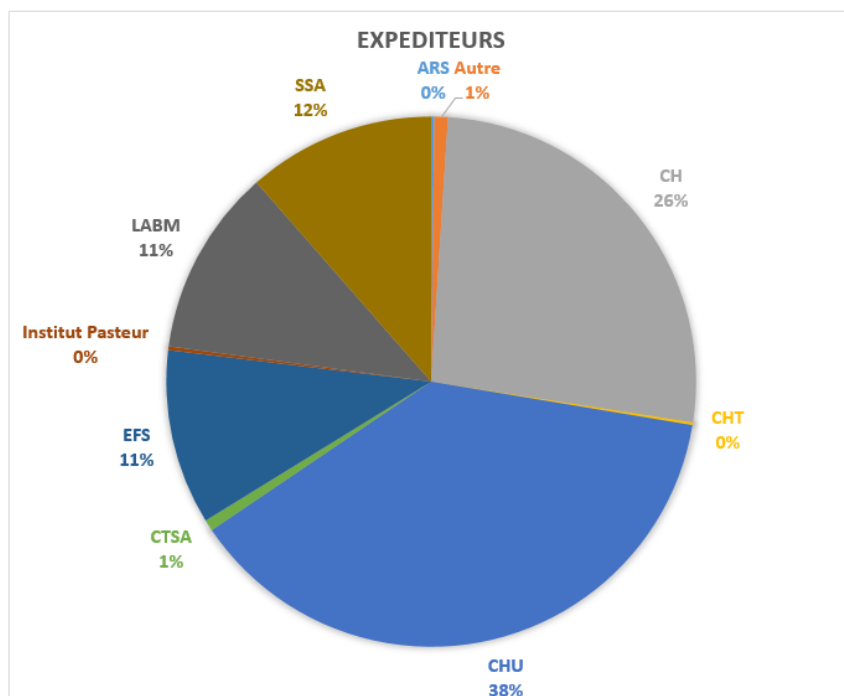


Figure 9. Origine des prélèvements reçus. CH = Centre Hospitalier, CHU = Centre Hospitalier Universitaire, LABM = laboratoire de biologie médicale, EFS = Établissement Français du Sang, CTSA = Centre de Transfusion des Armées, SSA = Service de santé des Armées, CHT = Communauté Hospitalière de Territoire

2 Résultats qualitatifs

Le diagnostic direct est réalisé soit par RT-qPCR soit par détection de l'antigène circulant NS1 du virus de la dengue. En 2024, un test PCR était effectué pour tous les prélèvements réalisés dans les 12 jours suivant la date de début des signes cliniques (et systématiquement en cas d'immunodépression signalée). La méthode de première ligne était la RT-qPCR sur automate Panther (HOLOGIC), la seconde ligne étant assurée sur automate CFX (BIORAD) après extraction des acides nucléiques sur automate EZ2 (QIAGEN). L'antigène NS1 DENV était recherché en cas de syndrome fébrile avec arthralgies et/ou myalgies, et si la quantité de prélèvement était suffisante. Au total, 13694 tests diagnostiques directs ont été réalisés (Tableau 8).

Le diagnostic indirect est réalisé par sérologie ELISA : en première intention sur automate Euroimmun, et en seconde intention sur automate VIRCLIA ou en ELISA « in house ». En 2024, 10096 sérologies IgM et 5759 sérologies IgG ont été réalisées. La confirmation par séroneutralisation a été réalisée 443 fois.

Le tableau 8 présente tous les tests réalisés, par virus et par type de cas. Voir chapitre 3 pour plus de détails.

Tableau 8. Nombre total d'analyses réalisées par virus et par méthode diagnostique en 2024.

| Virus | BIOLOGIE MOLECULAIRE | | ELISA manuel | | ELISA EuroImmu | | ELISA Lotus | | Séroneutralisations | Total |
|--------------|----------------------|--|--------------|-------------|----------------|-------------|-------------|------------|---------------------|--------------|
| | Automate Panther | Extraction automate EZ2, amplification CFX | IgM | IgG | IgM | IgG | IgM | IgG | | |
| cchf | 49 | 2 | | | | | | | | 51 |
| chikv | 1270 | 12 | 95 | 92 | 1577 | 609 | 42 | 29 | 23 | 3726 |
| denv | 1836 | 19 | 83 | 80 | 1734 | 790 | 52 | 28 | | 4622 |
| denv1 | 964 | 9 | | | | | | | 60 | 973 |
| denv2 | 953 | 14 | | | | | | | 61 | 967 |
| denv3 | 919 | 14 | | | | | | | 59 | 933 |
| denv4 | 912 | 6 | | | | | | | 25 | 918 |
| ebov | 2 | | | | | | | | | 2 |
| eeev | 1 | 8 | | | | | | | 1 | 9 |
| ev | 33 | | | | | | | | | 33 |
| jev | 258 | | 25 | 25 | 274 | 113 | | | 18 | 695 |
| lasv | 2 | | | | | | | | | 2 |
| marv | 2 | | | | | | | | | 2 |
| mayv | 29 | 7 | 12 | 12 | 3 | 3 | | | 1 | 66 |
| muvv | | 1 | | | | | | | | 1 |
| mvev | 1 | | | | | | | | | 1 |
| onnv | 86 | 6 | 8 | 15 | | | | | 1 | 115 |
| orov | 127 | 18 | | | 19 | 15 | | | 7 | 179 |
| rrv | 9 | 14 | 4 | 4 | | | | | 4 | 31 |
| rvfv | 113 | 34 | 46 | 46 | | | | | | 239 |
| sfsv | 2 | 1 | | | | | | | 1 | 3 |
| sinv | 115 | | 1 | 1 | | | | | 2 | 117 |
| slev | | 7 | 5 | 5 | | | | | | 17 |
| tbev | 1135 | 1 | 129 | 128 | 1344 | 1060 | 17 | 14 | 9 | 3828 |
| tonv | 8 | | 1 | 1 | | | | | | 10 |
| tosv | 246 | | 239 | 231 | | 2 | | | 2 | 718 |
| usuv | 244 | 16 | 3 | 5 | 3 | 29 | | | 62 | 300 |
| veev | 1 | 8 | 7 | 7 | | | | | 2 | 23 |
| weev | 1 | 11 | | | | | | | 2 | 12 |
| wnv | 2060 | 26 | 221 | 216 | 2173 | 1224 | 52 | 35 | 84 | 6007 |
| yfv | 618 | 3 | 317 | 304 | | | | | 7 | 1242 |
| zikv | 1446 | 15 | 23 | 23 | 1569 | 604 | 18 | 9 | 12 | 3707 |
| total | 13442 | 252 | 1219 | 1195 | 8696 | 4449 | 181 | 115 | 443 | 29549 |

Tableau 9. Diagnostiques réalisés, par virus et par type de cas.

| Genre | Virus | Cas autochtones | | Cas importés | Totaux |
|------------------------|------------------------|-----------------|----------------------------|----------------------------------|------------|
| | | métropole | hors métropole | métropole | |
| <i>Alphavirus</i> | CHIKV | 1 | 2 (La Réunion) | 10 (Afrique ouest, Asie SE) | 14 |
| | RRV | 0 | 0 | 1 | 1 |
| <i>Orthoflavivirus</i> | DENV (non typé) | 11 | 31 | 86 | 128 |
| | DENV-1 | 20 | 0 | 29 | 49 |
| | DENV-2 | 7 | 5 (Antilles, Asie SE) | 164 | 176 |
| | DENV-3 | 1 | 57 (Antilles, Djibouti) | 81 | 140 |
| | DENV-4 | 0 | 0 | 3 (Cuba, Mexique) | 3 |
| | JEV | 0 | 0 | 4 | 4 |
| | TBEV | 24 | 0 | 6 | 31 |
| | USUV | 4 | 0 | 1 (Espagne) | 5 |
| | WNV | 40 | 2 (Algérie, Guadeloupe) | 7 (Algérie, Italie, Maroc) | 46 |
| | ZIKA | 0 | 0 | 2 (Côte d'Ivoire, Seychelles) | 2 |
| <i>Orthobunyavirus</i> | OROV | 0 | 0 | 6 | 6 |
| | TOSV | 4 | 0 | 0 | 4 |

3 Collaboration avec les laboratoires privés

Le laboratoire collabore étroitement avec les laboratoires privés, en particulier les réseaux Cerba et Biomnis. Les prélèvements positifs en PCR et présentant une virémie suffisante pour séquencer les souches étaient envoyés par batch régulier au CNR. Un total de 146 échantillons a ainsi été transféré, permettant le séquençage de souches virales issues des TUM mais également d'autres pays. Notamment, des échantillons positifs en dengue 3 provenant de Martinique, de chikungunya de La Réunion, de dengue 4 de Cuba ont été transférées.

4 Activité de qualification des greffes

En 2024, le laboratoire a qualifié 2747 échantillons (1392 patients) au profit de l'agence de la biomédecine, et 868 (563 patients) au profit de l'EFS (Tableau 10). Cela représentait 3615 échantillons (1955 patients) au total, soit 37% de l'activité.

Tableau 10. Activité de qualification réalisée par le CNR métropole en 2024. CSH = cellules souches hématopoïétiques, PMO = prélèvements post mortem

| | No échantillons | (%) | No patients | (%) |
|--|-----------------|------------|-------------|------------|
| Qualification don de CSH | 1712 | 18% | 826 | 16% |
| Qualification PMO | 315 | 3% | 150 | 3% |
| Qualification autre (tissus, ...) | 720 | 8% | 416 | 8% |
| <i>sous total</i> | 2747 | 29% | 1392 | 26% |
| EFS | 868 | 9% | 563 | 11% |
| Total activité de qualification | 3615 | 38% | 1955 | 37% |

CNR-LA-IPG

Le nombre de prélèvements reçus en 2024 par le CNR-LA-IPG reçus pour diagnostic et expertise au CNR-LA-IPG a été de **5274**, en baisse par rapport à 2023 tout en restant cohérent avec le nombre de prélèvements précédemment reçus en période d'épidémie de dengue (Figure 10A). Après le démarrage d'une circulation soutenue de dengue de sérotype 3 majoritaire en 2023, la forte activité observée en janvier 2024, correspond à une forte accélération de l'épidémie de Dengue notamment sur l'île de Cayenne, associée à la co-circulation des sérotypes Dengue 2 et Dengue 3. (Figure 10B).

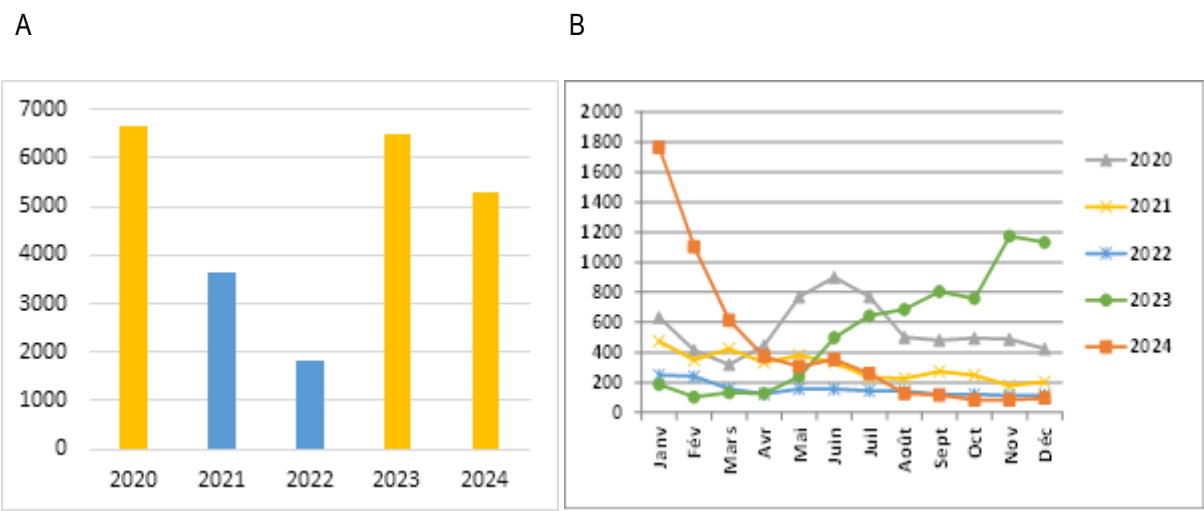


Figure 10 (A, B). Évolution du nombre annuel de prélèvements reçus au CNR-LA-IPG. (A) Nombre de prélèvements reçus par année d'exercice de 2020 à 2024 (en bleu : années inter-épidémiques, en jaune : années d'épidémies de virus Dengue). (B) Nombre de prélèvements reçus par mois sur les 5 dernières années

Le bilan des prélèvements reçus en fonction de leur provenance et des analyses réalisées est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 11. Prélèvements reçus en 2024 en fonction de leur provenance avec bilan des analyses réalisées

| Origine | Total plvts reçus en 2024 | Total plvts testés en sérologie | Nb total antigènes testés* | Analyses spécifiques | Nb Plvts testés en PCR | Nb cibles testées en PCR** | PCR positives DEN (1,2,3) | PCR positives autres | Total PCR positives |
|----------------------|---------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|--|------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------|
| Guyane | 5144 | 1260 | 5494 | 34 | 4059 | 17942 | 2206 | 10 | 2216 |
| Centres de Santé | 149 | 62 | 312 | 1 sero Oropouche | 97 | 477 | 75 | | 75 |
| CH Cayenne | 1334 | 870 | 4354 | 10 sero Oropouche, 5 IgA DEN, 2 IgA Zika, 2 IgM WN | 539 | 2703 | 366 | 2 (MAY) | 368 |
| CH Saint Laurent | 569 | 242 | 422 | 2 sero Oropouche, 4 IgA DEN, 5 IgA Zika | 375 | 1777 | 265 | 1 (OBV) | 266 |
| Labo Kourou | 1231 | 9 | 45 | | 1225 | 5163 | 574 | | 574 |
| Labo Saint Laurent | 251 | 16 | 66 | 1 sero Oropouche | 242 | 1135 | 88 | 2 (MAY et YFV) | 90 |
| Labos Ile de Cayenne | 1610 | 61 | 295 | 2 sero Oropouche | 1581 | 6687 | 838 | 5 (MAY et OBV) | 843 |
| Martinique | 10 | | 0 | | 10 | 40 | 10 | | 10 |
| Guadeloupe | 121 | | 0 | | 121 | 528 | 98 | | 98 |
| Total général | 5275 | 1260 | 5494 | 34 | 4190 | 18494 | 2314 | 1 YFV, 4 MAY, 5 OBV | 2324 |

*Ag testés : panel Dengue, Fièvre jaune, Tonate, Mayaro, Chikungunya, et/ou Zika

** Cibles PCR : virus Dengue 1 à 4, Chikungunya, Zika, Fièvre jaune, Tonate, Mayaro, Ilheus, West-Nile, Encéphalite Saint-Louis, Encéphalite japonaise, Oropouche, Orthobunyavirus serogroupe C, Phlebovirus Bujaru-like.

En 2024, le délai moyen de rendu de résultat du CNR-LA-IPG par rapport à la date de réception au laboratoire a été de 0.7 jours pour les PCR Dengue, 2.2 jours pour les PCR Chik et Zika et de 3.03 jours pour les sérologies. Les délais plus longs observés pour les sérologies s'expliquent par des techniques réalisées sur 2 jours (avec une incubation sur la nuit) et pour les PCR Chik et Zika par le fait qu'une large part de ces PCR sont réalisées dans le cadre de la surveillance sentinelle et non dans le cadre du diagnostic (PCR réalisées dans un second temps sur plvts dengue négatifs).

Tableau 12. Bilan général de l'activité du CNR LR en 2024

| | 2022 | | 2023 | | 2024 | |
|-------------------------|------|-------|------|-------|------|-------|
| | n | % | n | % | n | % |
| N total analyses | 8214 | | 5972 | | 8550 | |
| DENGUE | | | | | | |
| Sérologies | 1938 | | 1364 | | 1710 | |
| IgM+ isolés | 60 | 3,10 | 39 | 2,86 | 58 | 3,39 |
| IgG+ isolés | 560 | 28,90 | 372 | 27,27 | 538 | 31,46 |
| IgM+ IgG+ | 86 | 4,44 | 60 | 4,4 | 123 | 7,19 |
| RT PCR | 2869 | | 2235 | | 2767 | |
| Positif | 65 | 2,27 | 12 | 0,54 | 135 | 4,88 |
| Typage | 422 | | 63 | | 1109 | |
| D1 Positif | 405 | 95,97 | 3 | 4,76 | 3 | 0,27 |
| D2 Positif | 2 | 0,47 | 37 | 58,73 | 1031 | 93,05 |
| D3 Positif | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,09 |
| D4 Positif | 0 | 0 | 1 | 1,59 | 0 | 0 |
| CHIKUNGUNYA | | | | | | |
| Sérologies | 469 | | 400 | | 542 | |
| IgM+ isolés | 17 | 3,62 | 10 | 2,5 | 19 | 3,51 |
| IgG+ isolés | 144 | 30,70 | 109 | 27,25 | 140 | 25,83 |
| IgM+ IgG+ | 22 | 4,69 | 5 | 1,25 | 8 | 1,48 |
| RT PCR | 2516 | | 1909 | | 2414 | |
| Positif | 0 | 0 | 0 | 0 | 69 | 2,86 |
| ZIKA | | | | | | |
| Sérologies | 0 | | 0 | | 0 | |
| IgG positifs | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RT PCR | 0 | | 1 | | 8 | |
| Positif | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tableau 13. Origine des prélèvements reçus au CNR arbovirus associé LR en 2024.

| | Dengue | | | | | | Chikungunya | | | |
|--------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | Sérologies | | RTPCR | | Typage | | Sérologies | | RTPCR | |
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| CHU Réunion | 1448 | 84,68 | 2292 | 82,83 | 121 | 10,91 | 407 | 75,09 | 2178 | 90,22 |
| CH Mayotte | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 37 | 3,34 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |
| CHOR | 261 | 15,26 | 468 | 16,91 | 35 | 3,16 | 62 | 11,44 | 152 | 6,30 |
| LABM | 1 | 0,06 | 7 | 0,25 | 916 | 82,60 | 73 | 13,47 | 84 | 3,48 |
| Total | 1710 | 100 | 2767 | 100 | 1109 | 100 | 542 | 100 | 2414 | 100 |

A noter, nous avons réalisé :

- 84 PCR dengue (sang + urines) dans la cadre de la qualification de don d'organes
- 103 PCR dengue (sang) dans la cadre de la qualification de receveurs d'organes (rein, cœur)

En moyenne, les PCR dengue et chikungunya ont été réalisées pour confirmer/infirmar dans les 24h hors week-end à réception du prélèvement.

L'année 2024 a été marquée par l'apparition de cas d'infection par le virus chikungunya, alors que le dernier cas autochtone détecté à La Réunion remontait à plus d'une dizaine d'année. Les premiers cas ont été détectés fin août 2024. Au cours de l'année le nombre de cas est resté limité à quelques foyers dans l'Ouest et le Sud de l'île et le nombre de cas recensés en 2024 est de 145 (confirmés pour la plupart au CNR associé LR). Le niveau 2B du dispositif ORSEC « arboviroses » correspondant à une « intensification de la circulation virale autochtone et risque d'évolution en épidémie » a été activé le 18/12/2024. A noter que le niveau 3 du dispositif ORSEC « arboviroses » (« épidémie de faible intensité ») a été activé dès le 13/01/2025 devant une augmentation et une dispersion géographique des foyers de chikungunya.

Concernant la Dengue, 1303 cas ont été déclarés en 2024. Le stade 3 du dispositif ORSEC correspondant au début du stade épidémique n'a pas été déclenché en 2024.

2.6 Activités de séquençage

CNR-METROPOLE

En 2024, le CNR de métropole a produit **143** séquences d'arbovirus. En routine, un séquençage systématique est réalisé pour tous les cas avec un résultat positif en biologie moléculaire ou une isolation réussie en culture cellulaire, ainsi que pour les cas adressés spécifiquement pour des demandes de génotypage. Tous ces échantillons sont séquencés avec une approche haut-débit, sur Ion Torrent, avec une étape d'amplification pré-séquençage en PCR (soit agnostique, soit spécifique de l'espèce virale ciblée). Dans le cadre de son suivi génomique de routine, le CNR métropole a généré **131** séquences d'arbovirus dont 95 séquences complètes (95 % du génome couvert) et 15 séquences quasi-complètes (80 % du génome couvert). Ces données ont permis la caractérisation phylogénétique des infections recensées en France métropolitaine et dans certains territoires ultra-marins, en particulier aux Amériques (Antilles-Guyane).

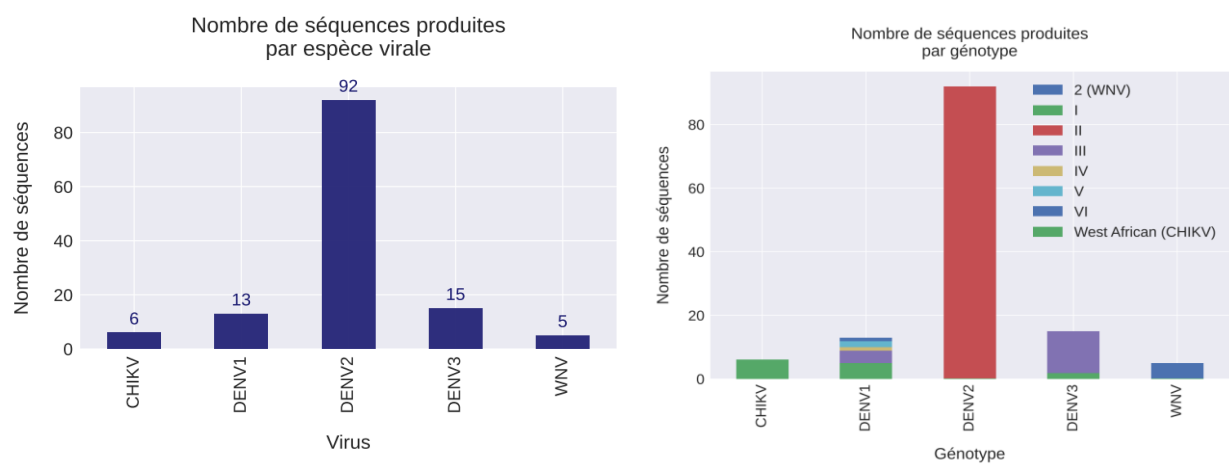


Figure 11. Nombre de séquences produites en routine en 2024 au CNR - METRO en fonction de l'espèce virale et du génotype

La majorité des virus séquencés dans le cadre de la routine appartient au sérotype 2 du virus de la dengue (92 séquences sur 131) avec également plus d'une dizaine de séquences pour les sérotypes 1 et 3 et des séquences pour d'autres espèces d'arbovirus dont WNV et CHIKV (Figure 11, panel de gauche). En termes de diversité génétique, plusieurs génotypes circulants ont été identifiés pour la dengue 1 (I, III IV, V, VI) et la dengue 3 (I,III). Un seul génotype a été recensé pour les autres virus notamment le génotype II pour la dengue 2, le lignage 2 pour WNV, le génotype West African pour le CHIKV (Figure 11, panel de droite).

Parmi les séquences produites, la plupart sont associées à des infections contractées aux Antilles (46) et en Guyane (8) - cas locaux et cas importés en métropole confondus. Outre les territoires ultra-marins, les virus séquencés ont des origines géographiques distribuées sur la plupart des continents, les pays les plus représentés étant la Côte d'Ivoire, le Brésil, et l'Indonésie.

| 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 | Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s) |
| | Technologie/matériel de la (des) plateforme(s) de séquençage auquel le CNR a accès Séquençage NGS haut-débit avec des séquenceurs de type Ion Torrent, Illumina, et Nanopore. |

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

| | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> NON | Si NON ou accès limité, précisez les raisons |
| | Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s) |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | <p>Outils utilisés pour l'analyse des séquences : commercial (BioNumerics par exemple),</p> <ul style="list-style-type: none"> - outils open source : BWA, BLAST, Samtools, Cutadapt, Trimmomatic, Ivar, IQ-TREE, MAFFT, python - Ces outils sont réunis dans des pipelines maison gérés avec le logiciel Snakemake. - Occasionnellement : outil commercial : CLC Workbench 22.0.2 |

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>Les activités de séquençage menées en 2024 ont permis de réaliser un suivi génomique des foyers de circulation autochtone du virus de la dengue et du virus West Nile afin d'identifier/confirmer les liens entre cas ainsi que l'origine de la circulation virale.</p> <p>Au total, 11 séquences de DENV associées à 5 foyers de circulation différents ont été produites (La Crau (4) ; La Colle sur Loup (2) ; Sainte Cécile les vignes (1) ; Vallauris (2) ; Montélimar (2)) et 3 séquences de WNV associées à deux foyers différents ont été produites (Var (1) ; Occitanie (1)). Nous avons également réalisé une analyse approfondie d'un cas autochtone de CHIKV, associé à plusieurs cas importés en provenance de Côte d'Ivoire (doi :10.1093/jtm/taaf002). Et nous avons également décrit une séquence partielle associée à un groupe de patients infectés par le virus Oropouche lors d'un séjour à Cuba (doi: 10.1016/S1473-3099(24)00815-6).</p> <p>Finalement, grâce au séquençage haut-débit, dans un cadre de recherche opérationnelle sur les excréta de moustique en Nouvelle Aquitaine, Occitanie et dans le Var le CNR métropole a pu réaliser un suivi génomique de la circulation du WNV en France en 2024 avec 11 séquences de WNV produites, et qui seront déposées sur Genbank en plus de l'activité de routine</p> <p>NB : Ces séquences ne sont pas comptabilisées dans le résumé en section 2.6 car réalisées hors du cadre de la routine</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) .

Les analyses conduites au CNR-METRO sont l'identification d'espèce/sérotipe/génotype viraux, analyses phylogénétiques et phylodynamiques, identification de mutations de résistance aux antiviraux en développement.

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

54 séquences ont été réalisées dans le cadre du suivi de l'épidémie de dengue de 2023-2024 aux Antilles.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Précisez ici le nombre de souches séquencées dans l'année : 77 séquences réalisées (hors suivi épidémie).

Modalités de sélection des souches pour séquençage : Tous les échantillons positifs en biologie moléculaire avec une charge virale suffisante pour permettre un séquençage partiel du génome ($C_t \leq 33$) sont sélectionnés pour le séquençage.

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

Dans les bases de données fermées : Précisez

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : Toutes les séquences complètes produites par le CNR-METRO ont été ou seront bientôt déposées sur la base de données publique Genbank

CNR-LA-IPG

En 2024, le CNR-LA-IPG a généré 149 nouvelles séquences complètes d'arbovirus : 144 séquences de dengue, 3 séquences de Mayaro et 2 séquences d'OBV. Des séquences partielles ont également été obtenues.

Toutes ces séquences sont déposées dans la base de données GenBank de la NCBI, dans un premier temps en accès confidentiel. Elles sont rendues publiques dès la publication de nos résultats.

– Activités de séquençage Dengue : (n=144)

Les activités de séquençage en vue de la caractérisation phylogénétique des virus Dengue circulants dans les départements français des Amériques (DFA) se sont poursuivies en 2024 permettant de générer :

- **38 séquences complètes de Dengue 1** ayant circulé entre 2005 et 2024 dans les DFA (34 de Guyane, dont 7 en 2023-2024 ; 2 de Martinique (2014 et 2019) et 2 de Guadeloupe (2009 et 2013).
- **49 séquences complètes de Dengue 2** ayant circulé en 2023-2024 (35 de Guyane et 14 de Guadeloupe et Iles du Nord)
- **38 séquences complètes de Dengue 3** ayant circulé entre 2020 et 2024 (34 de Guyane de 2023-2024, 1 de Guadeloupe de 2024 et 3 de Martinique de 2020)
- **19 séquences complètes de Dengue 4** ayant circulé entre 2005 et 2014 (10 de Guyane de 2005 à 2013, 5 de Guadeloupe de 2013-2014 et 4 de Martinique de 2005 et 2010)

– Activité de séquençage Mayaro : (n=3)

Le séquençage complet de 3 des 4 *Alphavirus mayaro* détectés en 2024 a été réalisé. Pour le 4^{ème} cas, la charge virale trop faible n'a permis ni l'isolement ni le séquençage direct.

– Activité de séquençage Orthobunyavirus : (n=2)

Les séquences complètes de **2 OBV** (1 détecté en 2022 et 1 détecté en 2002 et détenu dans la collection du CNR) ont pu être obtenues en 2024, mettant en évidence pour ces 2 virus des profils « Oriboca / *Orthobunyavirus*

oribocaense » (cf ICTV2022) pour le segment S et « Restan / *Orthobunyavirus oribocaense* » pour les segments L et M.

Le séquençage de souches OBV (historiques et issues de la surveillance) se poursuit, combinant des approches avec et sans a priori, mais leur importante diversité génétique et le faible nombre de séquences disponibles dans les bases de données rend leur séquençage plus complexe que pour les autres arbovirus séquencés au CNR-LA-IPG.

| | |
|---|---|
| Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ? | |
| <input type="checkbox"/> NON | Si NON ou accès limité, précisez les raisons |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | <p>Le CNR-LA IPG a eu accès à 2 plateformes de séquençage : plateforme interne CNR-LA-IPG et plateforme externe : Société AZENTA (Allemagne).</p> <p>Les technologies / matériels utilisés ont été respectivement :</p> <ul style="list-style-type: none"> - pour le plateforme interne : séquenceur MinION, - pour la société AZENTA : technologie Sanger. |

| | |
|---|--|
| Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ? | |
| <input type="checkbox"/> NON | Si NON ou accès limité, précisez les raisons |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | <p>Le CNR-LA IPG a accès en interne à une expertise bio-informatique.</p> <p>Outils utilisés pour l'analyse des séquences :</p> <ul style="list-style-type: none"> - outil commercial : CLC Workbench 22.0.2 - outil open source : ARTIC, nanopolish, Guppyplex, minimap2, BLAST, SPADES, VELVET, etc.. - et outils maisons pour génotypage et 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 | <p>Les activités de séquençage menées en 2024 visaient à investiguer les arbovirus détectés dans le cadre de la surveillance avec notamment le séquençage de virus Mayaro détectés en 2024 et la poursuite des investigations autour des souches d'Orthobunyavirus détectés depuis 2022. Elles visaient également à réaliser le suivi génomique des virus Dengue circulants (contexte épidémique 2023-2024).</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)

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.

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

Epidémies de dengue dans les DFA en 2023-2024, 91 génomes complets de 2023-2024 ont été générés en 2024 : 49 génomes complets DEN2, 35 génomes complets DEN3 et 7 génomes complets de DEN1.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Au total, en 2024 :

- les activités de séquençage en vue de la caractérisation phylogénétique des virus **Dengue** ayant circulé dans les départements français des Amériques (DFA) se sont poursuivies permettant de **générer 53 séquences complètes**, (en plus des 91 séquences de souches de l'épidémie 2023-2024) :
 - 31 séquences de Dengue 1 : 27 de Guyane entre 2009 et 2021, 2 de Martinique (2014 et 2019) et 2 de Guadeloupe (2009 et 2013).
 - 3 séquences de Dengue 3 de Martinique de 2020
 - 19 séquences de Dengue 4 ayant circulé entre 2005 et 2014 (10 de Guyane de 2005 à 2013, 5 de Guadeloupe de 2013-2014 et 4 de Martinique de 2005 et 2010)
- **3 des 4 virus Mayaro** détectés en 2024 ont été séquencés (génomés complets)
- Pour les OBV, un séquençage systématique de l'ensemble des virus détectés, (séquençage complet ou partiel en fonction de la virémie) est prévu. Toutefois la diversité des virus détectés et le peu de séquences disponibles dans les bases de données, rendent plus complexe la mise au point de protocoles de séquençage NGS dédiés. En 2024, le séquençage complet de **2 nouveaux OBV** a pu être obtenu

Le séquençage rétrospectif des souches disponibles au laboratoire est prévu progressivement au fur et à mesure de la mise en place des outils dédiés.

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences : génomes 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 LR réalise le séquençage du virus de la Dengue et du chikungunya en utilisant la technologie d'Oxford Nanopore.

En 2024, le CNR-LA-LR a réalisé :

-1050 séquençages d'échantillon de virus de la dengue et a obtenu 973 nouvelles séquences de DENV et 77 séquences ininterprétables

-125 séquençages d'échantillon de virus du chikungunya et a obtenu 115 nouvelles séquences de CHIKV et 10 séquences ininterprétables

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

| | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> NON | Si NON ou accès limité, précisez les raisons |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | <p>Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s)</p> <p>Le CNR LR utilise la plateforme de séquençage du CHU de La Réunion. Cette plateforme a été mise en place en 2022 pour le suivi épidémiologique génomique du virus SARS-CoV-2 à La Réunion et à Mayotte. Elle comporte des séquenceurs Nanopore et Illumina et est mutualisée pour répondre aux besoins de l'ensemble des laboratoires de l'hôpital.</p> |

| | |
|--|--|
| | <p>Technologie/matériel de la (des) plateforme(s) de séquençage auquel le CNR a accès</p> <p>CNR-LR : Dans le cadre du suivi génomique des arboviroses, la technologie utilisée est celle d'Oxford Nanopore.</p> <p>L'ARN des échantillons est extrait à l'aide d'un extracteur EMAG de BioMérieux.</p> <p>Des robots pipetteurs et un lecteur de plaques permettent de normaliser les concentrations de nucléotides et de préparer les librairies via un protocole maison, basé sur l'amplification multiplexe par fragments de 1 200 bases couvrant le génome des virus de la dengue et du chikungunya. Les librairies sont ensuite préparées avec le kit Rapid Barcoding d'Oxford Nanopore et séquencées sur les séquenceurs MinION.</p> <p>Cette approche maison repose sur la méthode de séquençage du réseau ARTIC, spécifiquement conçue pour les virus à ARN.</p> |
|--|--|

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

| | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> NON | Si NON ou accès limité, précisez les raisons |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | <p>Type d'accès (interne ou externe au CNR) ; si externe, précisez quelle(s) plateforme(s)</p> <p>Le CNR LR a recruté un bio-informaticien en 2022 (0,2ETP) et fait appel à son ingénieur en biologie médicale pour réaliser ses analyses bio-informatiques.</p> <p>Outils utilisés pour l'analyse des séquences : commercial (BioNumerics par exemple), outil open source, outil maison ...</p> <p>CNR-LR : Le traitement des données de séquençage (Pod5 et Fastq) est réalisé en utilisant les outils bioinformatiques d'Oxford Nanopore (MinKNOW, Dorado) et le pipeline open source field bioinformatics du consortium ARTIC (https://github.com/artic-network/fieldbioinformatics). Les séquences consensus sont ensuite analysées dans l'outil Geneious Prime, par alignement multiple (MAFFT) et par analyse phylogénétique (IQ-TREE).</p> <p>Le génotypage et l'analyse des séquences d'arbovirus sont réalisés à l'aide des outils en ligne Dengue/Chikungunya Virus Typing Tool (genomedetective.com) et Nextclade.</p> |

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

| | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> NON | Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ? |
| <input checked="" type="checkbox"/> OUI | 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. |

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 2024, le CNR LR a réalisé le séquençage de : 973 séquences du virus de la dengue et 115 du virus du chikungunya.

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

En 2024, le CNR LR a réalisé le séquençage de l'ensemble des échantillons de DENV et de CHIKV qui lui ont été adressés.

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. L'archivage des données est ensuite réalisé sur un serveur NAS dédié, sécurisé et à accès limité.

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

Les séquences assemblées des génomes des virus de la dengue et du chikungunya du CNR LR sont régulièrement déposées dans la base de données publique NCBI GenBank, en accès confidentiel, en attendant leur valorisation sous forme d'étude et d'article scientifique, avant d'être rendues publiques

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

CNR-METROPOLE

Toutes les séquences complètes et quasi-complètes produites par le CNR-METRO ont été ou vont être déposées sur la base de données publique GenBank (GenBank accession numbers: PQ483508-PQ483514 ; PP326833) et sur la base de données privée ARBOGEN. Dans certains cas particulièrement intéressants, une séquence partielle pourra être déposée. Un dépôt sur NCBI des données brutes est également prévu.

CNR-LA-IPG

Toutes les séquences complètes générées par le CNR-LA-IPG ont été obtenues à partir de prélèvements (sérum ou plasma) reçus pour surveillance ou expertise adressés par les laboratoires hospitaliers et privés des DFA. Ces séquences sont déposées dans la base de données GenBank de NCBI, dans un premier temps en accès confidentiel. Elles sont rendues publiques dès la publication de nos résultats (effectif pour séquences Dengue 2 et Dengue 3).

CNR-LA-LR

Le CNR LR a soumis ses données de séquençage dans la base de données GenBank de la NCBI. Ces séquences proviennent d'isolats cliniques et de prélèvements (sérum ou plasma), issus du CHU de La Réunion, de Mayotte et des laboratoires de biologie médicale de La Réunion.

Les séquences sont déposées en accès confidentiel dans la base de données GenBank de la NCBI. Les séquences de DENV utilisées dans le cadre de la publication scientifique Frumence et al., 2024 ont été rendues publiques sous les identifiants GenBank OR235231-OR235708.

3. Activités de surveillance

CNR en métropole

L'année 2024 est une année charnière pour la dengue le plus grand nombre de cas autochtones (83 cas pour 11 foyers) et la circulation soutenue du virus West Nile en métropole (38 cas). Des cas importés de dengue des Antilles, de virus Oropouche d'Amérique Latine et Cuba, et enfin le premier cas humain identifié de West Nile en Guadeloupe. Enfin, l'année 2024 a été l'année de la reprise de circulation du chikungunya à la Réunion (133 cas).

CNR associé en Guyane Française

L'année 2024 a été une nouvelle année record pour la Dengue au niveau mondial, avec notamment plus de 13 millions de cas dans les Amériques (source PAHO). Après le redémarrage d'épidémies de Dengue dans tous les Départements Français des Amériques (DFA) en 2023, l'année 2024 a été marquée par une poursuite de la circulation épidémique des sérotypes 2 +/- 3 dans tous les territoires sur une large partie de l'année.

Parallèlement quelques cas d'infection par le virus Mayaro (n=4) ont été détectés en Guyane ainsi que de nouveaux cas d'infection par les Orthobunyavirus du séro groupe C (n=4).

Par contre, malgré les alertes liées à la recrudescence épidémique du virus Oropouche dans les Amériques en 2023-2024, aucun cas d'infection par le virus Oropouche n'a été identifié dans les DFA, de la même façon aucune détection de virus Chikungunya ou Zika n'a été observée.

CNR associé à La Réunion

L'année 2024 a été l'année de ré-apparition de cas d'infection par le virus chikungunya, alors que le dernier cas autochtone détecté à La Réunion remontait à plus d'une dizaine d'année

3.1 Description du réseau de partenaires

CNR-METROPOLE

Le CNR-METROPOLE et Santé Publique France ont maintenu un réseau de laboratoires participant à la surveillance annuelle et regroupant les LABM Eurofins, CERBA ainsi que 15 laboratoires hospitaliers répartis sur tout le territoire français et permettant ainsi une bonne couverture globale (Figure 12). Le CNR-METROPOLE et Santé publique France organisent une réunion annuelle avec le réseau de laboratoire, réunion permettant de nombreux échanges scientifiques et stratégiques.

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 Zika.

Le CNR de métropole se positionne en seconde ligne pour un diagnostic de confirmation et d'expertise : diagnostics d'autres arboviroses tels que West Nile, TBE, fièvre jaune, encéphalite Japonaise, Mayaro, Toscana, Fièvre de la Vallée du Rift ; tests sur des matrices alternatives au sérum/plasma (LCR, urines, salive, sperme, biopsie, etc.) ; confirmation des cas suspects autochtones. 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.

Depuis 2023, le CNR a mis en place une collaboration renforcée avec les laboratoires privés pour la surveillance génomique des arbovirus. Ainsi les reliquats de prélèvements positifs en PCR avec des charges virales suffisantes pour permettre le séquençage (Ct<30) nous sont envoyés régulièrement par lots (environ une fois par mois) par les laboratoires Cerballiance et Eurofins.



Figure 12. Répartition des laboratoires hospitaliers du réseau de surveillance Arbovirus sur le territoire français (métropole).

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 Soin (CDPS). Carte : 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.



Figure 13

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. En Guyane, bien que le PSAGE ne soit plus appliqué, les modalités restent similaires en l'attente du nouveau plan toujours en cours de définition par l'ARS.

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

Parallèlement à cette surveillance, le CNR-LA IPG réalise pour la Guyane, un échantillonnage de prélèvements d'intérêt (clinique évocatrice et prélèvement précoce DDS <5j) parmi les prélèvements reçus pour diagnostic et/ou expertise 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).

Un réseau de surveillance biologique spécifique pour ces autres arboviroses, mis en place en Guyane pour formaliser et renforcer cette surveillance sous la coordination de l'ARS Guyane et de SpF, et en collaboration avec les mêmes laboratoires privés et hospitaliers, a officiellement démarré en septembre 2022.

L'année 2024 a malheureusement été marquée par une faible mobilisation du réseau de laboratoires :

- Pour les Antilles, seuls des laboratoires de ville ont ponctuellement contribué à la surveillance des sérotypes de dengue circulants ;
- Pour la Guyane, le suivi des sérotypes de dengue circulants a pu être réalisé sur le premier semestre, mais une forte chute du nombre de prélèvements reçus sur la seconde partie de l'année et surtout du nombre de prélèvements répondant aux critères de la surveillance a largement impacté le fonctionnement de la surveillance des arbovirus autres. La faiblesse du système de surveillance a été largement soulignée dans le contexte d'alerte régionale Oropouche mais les différentes tentatives de relance menées alternativement par l'ARS et SpF conjointement avec le CNR-LA sont restées sans effet en 2024.

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^e 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.
- Le Cirad (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) avec le Dr. David Wilkinson (chercheur)
 - UMR PIMIT – Unité de recherche

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

1. Cas autochtones en 2024

Virus dengue, chikungunya, Zika

L'année 2024 a été marquée sur le plan de la dengue par l'infection de 83 patients dans 11 foyers, en région PACA, Occitanie et Auvergne-Rhône-Alpes (Tableau 14). L'origine géographique a pu être inférée pour 5 des foyers grâce au séquençage sur le prélèvement ou sur l'isolat. Un cas de chikungunya a été détecté en Île-de-France.

Un cas de CHIKV autochtone a été identifié à Paris chez un patient n'ayant pas voyagé dans les 14 jours précédents la date de début de signe. La souche isolée appartient au lignage West African et est phylogénétiquement proche des souches circulantes en Côte d'Ivoire en 2023-2024. Les résultats associés à l'analyse des séquences issues des cas importés de Côte d'Ivoire en 2023-2024 ont été publiés en 2024 (doi :10.1093/jtm/taaf002).

Pour le foyer de La Colle sur Loup (2 cas), les séquences obtenues ont permis d'identifier un lien avec l'Asie.

Pour le foyer de Sainte Cécile les Vignes (18 cas), la séquence obtenue a permis de confirmer le lien avec la Guyane Française suggéré par les enquêtes épidémiologiques.

Pour le foyer de La Crau (25 cas) les séquences obtenues à partir des cas autochtones suggèrent un lien avec l'Asie du Sud-Est.

Pour le foyer de Montélimar (2 cas), l'unique séquence obtenue a permis d'identifier un lien avec l'Asie (Inde).

Pour le foyer de Vallauris (14 cas), les séquences virales obtenues à partir de cas autochtones ont permis d'identifier un lien avec l'Afrique de l'Ouest.

Aucunes données de séquençage n'ont pu être obtenues pour les foyers de Montpellier (1 cas), de Baho ou Florac (2 cas), de Menton (1 cas), de Fréjus (15 cas), de Vendargues (2 cas), et de Ramatuelle (1 cas).

Tableau 14. Foyers autochtones de dengue survenus en métropole en 2024.

| Virus | Région | Département | Commune(s) | Nb cas autochtones | Sérotypage (génotype) | Isolement viral | Phylogéographie |
|-------------|----------------------------|---|---|--------------------|-----------------------|-----------------|--|
| Chikungunya | Île-de-France | Paris (75) / Hauts-de-Seine (92) | Paris ou Gennevilliers (92) | 1 | West African | Oui | Côte d'Ivoire |
| Dengue | Occitanie | Hérault (34) | Montpellier ou Pérols (2 lieux de transmission possibles) | 1 | DENV-? | Echec | ? |
| Dengue | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Alpes-Maritimes (06) | La Colle sur Loup | 2 | DENV-1 (I) | Oui | Asie (Singapour, Indonésie, Cambodge, Chine) |
| Dengue | Occitanie | Pyrénées-Orientales (66) ou Lozère (48) | Baho (66) ou Florac (48) | 2 | DENV-? | Echec | ? |
| Dengue | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Vaucluse (84) | Sainte-Cécile-les-Vignes | 18 | DENV-2 (II Cosmo) | Oui | Guyane |
| Dengue | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Var (83) | La Crau | 25 | DENV-1 (I) | Oui | Asie du Sud-Est |
| Dengue | Auvergne-Rhône-Alpes | Drôme (26) | Montélimar | 2 | DENV-2 (II Cosmo) | Oui | Asie (Inde) |
| Dengue | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Alpes-Maritimes (06) | Menton (ou Monaco) | 1 | DENV-2 (II Cosmo) | Echec | ? |
| Dengue | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Var (83) | Fréjus | 15 | DENV-3 | Echec | ? |
| Dengue | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Alpes-Maritimes (06) | Vallauris | 14 | DENV-1 (III) | Echec | Afrique de l'Ouest (Benin, Nigeria) |
| Dengue | Occitanie | Hérault (34) | Vendargues | 2 | DENV-1 | Echec | ? |
| Dengue | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Var (83) | Ramatuelle | 1 | DENV-? | Echec | ? |

Enfin, un cas de Zika a été identifié en août 2024, chez un voyageur de retour de Seychelles. La souche appartient au lignage Asiatique et représente la deuxième identification de ZIKV dans l'Océan Indien, après un autre cas importé de Seychelles en Italie en avril 2024.

Virus West Nile, Usutu

En 2024, les cas de West Nile ont porté essentiellement sur le sud-est de la France : dans le Var et en Camargue (Tableau 15). Ces deux aires ont vu circuler deux sous-lignages distincts du lignage 2 du virus : le premier avec un lien avec les souches circulant en Nouvelle Aquitaine (Camargue, 2 séquences partielles disponibles), et le deuxième avec une origine en Italie (Var, 1 séquence complète disponible).

Un cas sévère (forme neurologique) présentant une virémie prolongée a été identifiée au CHU de Bordeaux. La PCR était encore positive 2 mois après la date de début des signes. Une recherche d'anticorps anti-interféron réalisée à l'Institut Imagine s'est avérée négative.

Tableau 15. Cas autochtones de West Nile et Usutu en 2024

| Virus | Région | Département | Nb cas autochtones | Isolement viral |
|-------|----------------------------|---------------------------|--------------------|-----------------|
| WNV | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Var (83) | 24 | 3 |
| WNV | Occitanie | Hérault (34) | 9 | 1 |
| WNV | Occitanie | Gard (30) | 4 | 2 |
| WNV | Nouvelle-Aquitaine | Pyrénées-Atlantiques (64) | 1 | 0 |
| WNV | Nouvelle-Aquitaine | Gironde (33) | 2 | 0 |
| USUV | Occitanie | Tarn (81) | 1 | 0 |
| USUV | Bourgogne-Franche-Comté | Yonne (89) | 1 | 0 |
| USUV | Corse | Haute-Corse (2B) | 1 | 0 |
| USUV | Provence-Alpes-Côte d'Azur | Var (83) | 1 | 0 |

En 2024 la France accueillait les Jeux Olympiques. A cette occasion, l'EFS a décidé de qualifier systématiquement les dons de sang réalisés entre le 1er juillet et le 15 septembre dans les départements du Var, des Bouches-du-Rhône, du Gard, et de l'Hérault. Cette proactivité a permis une détection précoce du virus West Nile : deux semaines avant la première alerte dans les compartiments moustiques et chevaux et trois semaines avant les premiers cas symptomatiques dans le Var ; et deux semaines avant le premier cas symptomatique en Camargue. Cette observation a fait l'objet d'une publication soumise à JAMA Network Open.

Virus de l'encéphalite à tique (TBEV)

En 2024, 24 cas d'encéphalites à tique ont été diagnostiquées au CNR. Ces cas provenaient des régions présentées dans le tableau 16. A noter un foyer de TBEV dans le Trièves, pour lequel des cas avaient été détectés en 2021 (1 cas) et en 2023 (2 cas).

| Virus | Région | Nb cas autochtones | Isolement viral |
|-------|-------------------------|--------------------|-----------------|
| TBEV | Auvergne-Rhône-Alpes | 14 | 0 |
| TBEV | Bourgogne-Franche-Comté | 3 | 0 |
| TBEV | Grand Est | 6 | 0 |
| TBEV | Inconnue | 1 | 0 |

Tableau 16. Cas d'encéphalites à tique en 2024 (données CNR non harmonisées avec les données épidémiologiques)

2. Épidémie de dengue dans les Antilles Françaises et en Guyane Française

Le CNR métropole a fait le diagnostic biologique d'infection par le virus de la dengue pour 241 échantillons de patients résidents ou au retour de voyage des Antilles Française ou de Guyane Française (Tableau 17). Il a produit 54 séquences de DENV en provenance des Antilles et de Guyane Françaises.

Tableau 17. Résumé des PCR positives au CNR métropole pour le virus de la dengue chez des patients au retour ou résident aux Antilles Françaises

| Ile | Dengue non typée | Dengue 2 | Dengue 3 |
|------------------|------------------|----------|----------|
| Guadeloupe | 26 | 36 | 50 |
| Martinique | 14 | 87 | 6 |
| Saint Martin | 0 | 1 | 0 |
| Saint Barthélémy | 1 | 1 | 0 |
| Guyane Française | 4 | 10 | 5 |

3. Détection du virus Oropouche chez des voyageurs métropolitains

En 2024, 6 cas de OROV ont été identifiés par RT-qPCR et sérologie au CNR, tous importés de Cuba en août 2024 : un cas isolé et un cluster familiale de 5 personnes (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39709970/>).

4. Cas d'encéphalite Japonaise

Deux cas sévères, non mortels de JEV ont été identifiés par RT-qPCR et sérologie chez deux voyageurs de retour d'Asie du sud-est (Cambodge-Cas 1, Cambodge/Vietnam-Cas 2). Les deux patients ont été hospitalisés avec présentation neurologiques et n'étaient pas vaccinés (<https://journals.asm.org/doi/10.1128/asmcr.00054-24>).

5. Cas de la virus Toscana

Trois cas du virus Toscana (TOSV) ont été identifiés en 2024 : trois hommes (âge médiane 68 ans), tous présentant des symptômes neurologiques, notamment des céphalées, de la fièvre et une atteinte méningée. Deux cas étaient localisés dans le sud de la France, alors que le troisième était en Haute-Savoie, représentant la détection la plus septentrionale du TOSV en France. Tous les patients ont récupéré sans séquelles, soulignant le caractère généralement bénin mais cliniquement significatif de l'infection à TOSV. L'analyse du LCR a révélé une pléïocytose lymphocytaire et la présence d'ARN viral (Ct : 28–43), avec des anticorps IgM présents dans tous les échantillons de LCR testés. Les cas de TOSV détecté en 2024 (groupé avec ceux du 2022 et 2023) ont fait l'objet d'une publication soumis à Journal of Infection.

Tableau 18. Résumé des cas de TOSV (tableau issu de la publication)

| Case | Residence and travel information | Period of exposure | Age | Sex | Clinical acute symptoms | Laboratory Findings |
|------|---|--------------------|-----|-----|--|---|
| 1 | France, Bouches-du-Rhône, Les Pennes Mirabeau | August 2024 | 44 | M | Headache, meningeal involvement | CSF: 184 leukocytes/mm3 including including 95% lymphocytes |
| 2 | France, Vaucluse travel to Ardèche | August 2024 | 69 | M | Fever, headache, arthralgia, myalgia, asthenia | CSF: 170 leukocytes/mm3 including including 74% lymphocytes |
| 3 | France, Haute-Savoie, Annecy travel to Var, Hyères | July 2024 | 68 | M | Fever, headache, vomiting, retro-orbital pain, meningeal involvement | NA* |

*NA: Data not-available

Tableau 19. Résumé des résultats biologiques des cas de TOSV (tableau issu de la publication)

| | Days PSO | Sample Type | RT-qPCR (Ct) | Anti-TOSV IgM (ratio) | Anti-TOSV IgG (ratio) |
|-------|----------|-------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| Case1 | 2 | CSF | 28 | 5,4 | 0,9 |
| | 4 | Serum | NT | 7,7 | 1 |
| | 42 | Plasma | NT | 4,5 | 3,4 |
| Case2 | 5 | CSF | 43 | 8 | 0,9 |
| | 5 | Serum | neg | 14,5 | 1,1 |
| Case3 | 2 | CSF | 37 | 3,1 | 1 |
| | 5 | CSF | 38 | 8,5 | 1,1 |
| | 6 | Plasma | neg | 7 | 1,1 |
| | 6 | Whole Blood | neg | NT | NT |

CNR-LA-IPG

Dans les DFA, les circulations épidémiques de la dengue qui avaient débuté mi 2023 se sont poursuivies en 2024 :

Aux Antilles, la circulation intense de virus de dengue 2 en début d'année a progressivement diminué sur le 1^{er} semestre avec une fin d'épidémie en semaine 2024-24 en Martinique tandis qu'en Guadeloupe un rebond épidémique était noté à partir de la semaine 2024-37 notamment en rapport avec la circulation de virus de sérotype 3.

En Guyane, une forte accélération de l'épidémie a été observée en début d'année notamment sur l'île de Cayenne avec une circulation qui est restée très intense sur les 3 premiers mois de l'année. Après une large dominance de sérotype 3 observée en 2023, l'année 2024 a été marquée par la diversification des sérotypes circulants avec une co-circulation dengue 2 - dengue 3 évoluant vers une dominance de dengue 2 en fin d'épidémie.

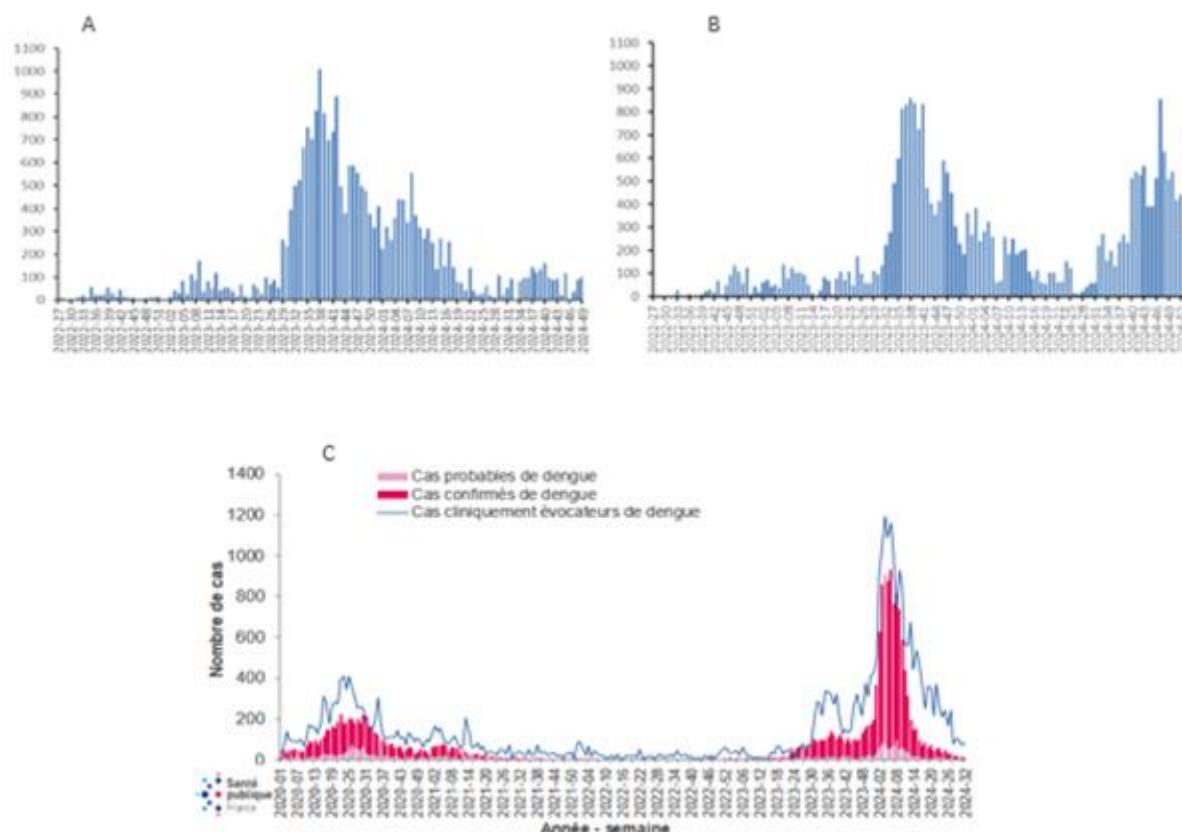


Figure 14 : Nombre hebdomadaire de cas cliniquement évocateurs de Dengue - source SpF : **A :** Martinique, sem 2022-27 à 2025-01 ; **B :** Guadeloupe, sem 2022-27 à 2025-01 ; **C :** Guyane, sem 2020-01 à 2024-32

ANALYSES MOLECULAIRES : L'ensemble des résultats des analyses moléculaires réalisées au CNR-LA-IPG est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 20. Prélèvements reçus en 2024 en fonction de leur origine avec bilan des analyses moléculaires réalisées, et les résultats positifs obtenus

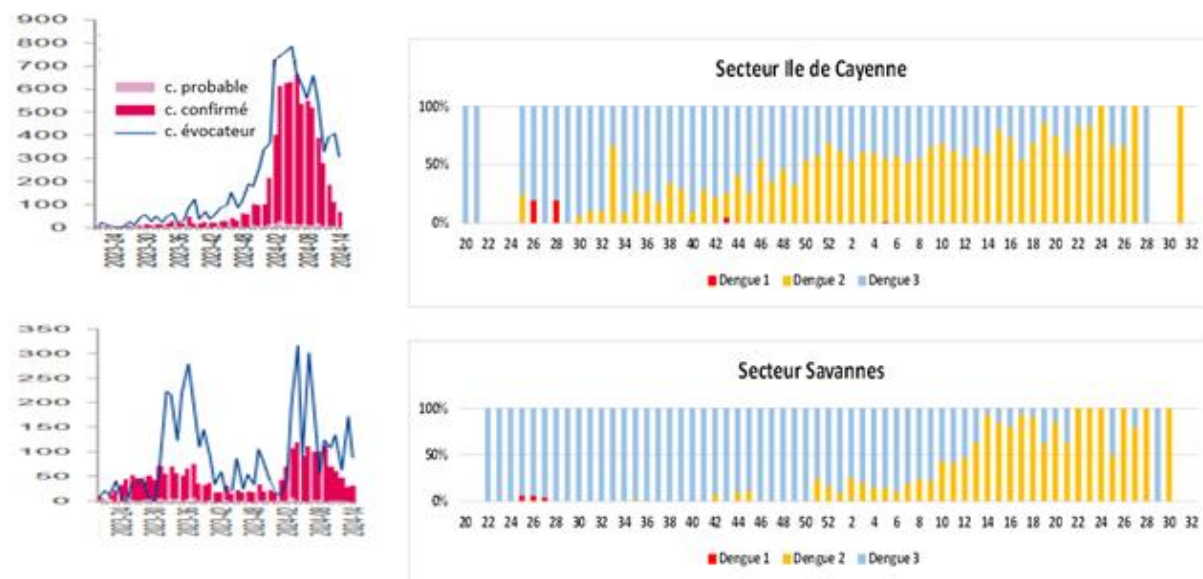
| Origine | Total plvts reçus en 2024 | Nb plvts testés en PCR | Nb PCR DEN | POS | DEN 1 | DEN 2 | DEN 3 | DEN 2 + | Nb PCR CHIK | Nb PCR ZIKA | Nb PCR TON | Nb PCR YFV | Nb PCR MAY | Nb PCR ORO | Nb PCR Ilheus et SLE | Nb PCR JEV | Nb PCR WN | Nb PCR Bujaru- like | Nb PCR OBV | Positifs |
|----------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------|------|----------|----------|----------|------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-----------------|------------------------------|------------------|--------------------|
| Guyane | 5144 | 4059 | 3983 | 2206 | 4 | 1176 | 1015 | 11 | 284 | 306 | 7 | 248 | 255 | 255 | 79 | 85 | 85 | 79 | 248 | 1YFV; 4 MAY; 5 OBV |
| Centres de Santé | 149 | 97 | 93 | 75 | 1 | 51 | 23 | | 13 | 13 | 1 | 12 | 12 | 12 | 6 | 6 | 6 | 6 | 12 | |
| CH Cayenne | 1334 | 539 | 513 | 366 | 1 | 242 | 121 | 2 | 96 | 98 | 2 | 81 | 83 | 83 | 25 | 26 | 26 | 25 | 81 | 2 MAY |
| CH Saint Laurent | 569 | 375 | 330 | 265 | | 139 | 125 | 1 | 75 | 99 | 4 | 38 | 40 | 40 | 24 | 25 | 25 | 24 | 39 | 1 OBV |
| Labo Kourou | 1231 | 1225 | 1225 | 574 | | 187 | 385 | 2 | 46 | 42 | | 40 | 40 | 40 | 3 | 3 | 3 | 3 | 40 | |
| Labo Saint Laurent | 251 | 242 | 242 | 88 | | 37 | 51 | | 15 | 15 | | 24 | 24 | 24 | 8 | 8 | 8 | 8 | 25 | 1 YFV*; 1 MAY |
| Labos Ile de Cayenne | 1610 | 1581 | 1580 | 838 | 2 | 520 | 310 | 6 | 39 | 39 | | 53 | 56 | 56 | 13 | 17 | 17 | 13 | 51 | 1 MAY; 4 OBV** |
| Martinique | 10 | 10 | 10 | 10 | | 9 | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| Guadeloupe | 121 | 121 | 121 | 98 | | 56 | 42 | | | | | | | 22 | | | 22 | | | |
| Total général | 5275 | 4190 | 4110 | 2314 | 4 | 1241 | 1058 | 11 | 284 | 306 | 7 | 248 | 255 | 277 | 79 | 85 | 107 | 79 | 248 | 1YFV; 4 MAY; 5 OBV |

*1 YFV post vaccinale / ** 2 plvts OBV positifs pour 1 même patient

Dans le cadre du suivi des épidémies de dengue dans les DFA, un total de 2314 typages a été réalisé permettant l'identification d'une majorité de sérotypes 2 et 3, et 53 séquences complètes ont été générées (cf. & 2.6).

En Guyane les différences de dynamique épidémique et de proportion des sérotypes circulants entre les secteurs sont notables avec par exemple un seul pic épidémique très intense sur Cayenne et 2 pics épidémiques d'intensité plus modérée sur le secteur de Kourou (Savannes) et avec la dominance du sérotype 2 sur la région de Cayenne

(63% des typages) alors que sur Kourou les Dengue 2 représentent moins de 33% des sérotypages réalisés, et ont été observés principalement à l'occasion du second pic. L'évolution hebdomadaire du nombre de cas cliniquement évocateurs de Dengue (données SpF Guyane) ainsi que des pourcentages respectifs des sérotypes circulants sur les secteurs de l'Ile de Cayenne et sur le secteur de Kourou (données CNR) sont présentés ci-dessous.



Ces différences viennent confirmer l'importance du suivi sectorisé des épidémies de dengue en Guyane (5 secteurs définis : Ile de Cayenne, Savanes (région de Kourou), Littoral Ouest, Maroni, Oyapock).

Aux circulations épidémiques de virus Dengue sur l'ensemble des DFA, se sont ajoutées, en Guyane, quelques détections d'infection par d'autres arbovirus :

➤ **1 cas de Fièvre jaune (*Orthoflavivirus flavi*) : post vaccination**

Homme de 35 ans ayant présenté un syndrome dengue-like le 17/09/2024, et prélevé le même jour pour une recherche de dengue. La qRT-PCR dengue étant négative le prélèvement a été testé en surveillance sentinelle et a été trouvé positif en qRT-PCR fièvre jaune. Après contact du médecin, il s'est avéré que le patient avait été vacciné contre la fièvre jaune le 12/09/2024. Une technique alternative de qRT-PCR a permis de confirmer qu'il ne s'agissait pas d'un virus de lignage sud-américain mais bien d'un virus d'origine africaine (vaccinal).

➤ **4 cas d'infection par un virus Mayaro (*Alphavirus mayaro*)**

Ces 4 cas d'infection par le virus Mayaro ont été détectés par RT-qPCR maison, et pour les 3^{es} cas, les virémies se sont avérées suffisantes pour obtenir un séquençage complet et un isolement viral.

- Cas n°1 fin janvier 2024 : femme de 39 ans ayant présenté un syndrome dengue-like (avec fièvre, myalgies, arthralgies, céphalées, asthénie, rash, œdèmes et douleurs des extrémités) au retour de mission dans la station de recherche de la réserve naturelle des Nouragues. Cette réserve scientifique située dans le quart nord-est de la Guyane est presque exclusivement recouverte de forêt primaire.
- Cas n°2 fin février 2024 : homme de 36 ans ayant présenté, un syndrome dengue-like (avec fièvre, arthralgies, céphalées, asthénie, diarrhée) également au retour d'une mission dans la station des Nouragues.

Au-delà de ces 2 cas confirmés, d'autres cas suspects d'infection Mayaro parmi les chercheurs de retour de la station des Nouragues en janvier et février 2024 ont été rapportés, avec pour 2 personnes supplémentaires prélevées plus tardivement (entre J6 et J24 après le début des symptômes), la mise en évidence d'IgM Mayaro fortement positives. L'investigation de ce cluster fait l'objet d'une publication dans AJTMH (2025 sous presse).

- Cas n°3 mi-février 2024 : homme de 28 ans, militaire, basé cette fois à l'ouest de la Guyane, et ayant présenté un syndrome dengue-like avec fièvre, frissons, myalgies, arthralgies, céphalées, et douleurs rétro-orbitaires.
- Cas n°4 mi-juillet 2024 : homme de 24 ans, habitant à Cayenne et ayant présenté un syndrome dengue-like avec fièvre, arthralgies, céphalées, myalgies, asthénie, diarrhée, et éruption cutanée prurigineuse.

➤ **4 cas d'infection par un Orthobunyavirus**

Ces infections sont intervenues entre juillet et décembre 2024, et ont été détectés à l'aide d'une qRT-PCR triplex maison ciblant le segment S des OBV du séro groupe C : toutes se sont avérées positives avec le système ciblant les virus Oriboca-like.

- **Cas n°1 et n°2 en juillet 2024** : couple de 30 ans, résidant dans un lotissement à Matoury en bordure de forêt, ayant présenté le même jour un syndrome dengue-like avec respectivement fièvre, céphalées, myalgies, arthralgies et hyperhémie conjonctivale pour l'un et fièvre, céphalées, myalgies, arthralgies, nausées, asthénie pour l'autre.
- **Cas n°3 en novembre 2024** : homme (militaire) de 34 ans ayant présenté un syndrome dengue-like 2 jours après le retour d'une mission de cohésion de 3 jours entre Stoupan et Roura avec fièvre élevée (39°9), sueurs, céphalées, myalgies, lombalgies et contractures musculaires.
- **Cas n°4 en décembre 2024** : homme de 36 ans piroguier entre Saint Laurent du Maroni et Albina ayant présenté un syndrome dengue-like avec fièvre, céphalées, myalgies, arthralgies, nausées

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

Tableau 21. Prélèvements reçus en 2024 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques (hors Zika) réalisées, et les résultats

| ORIGINE | Total plvts reçus en 2024 | Total plvts testés en sérologie | Nb testés IgM "panel arbo" | Résultats sérologies IgM "panel arbo" | | | | | | | | Nb testés IgG Chik | Chik IgG Pos |
|----------------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------|--------------|------------|---------------|---------------|----------------|--------------------|--------------------|--------------|
| | | | | Neg | IgM DEN Isol. | IgM YF Isol. | IgM Flavi* | IgM TON Isol. | IgM MAY Isol. | IgM CHIK Isol. | IgM Flavi + alpha* | | |
| Guyane | 5144 | 1260 | 1022 | 746 | 108 | 16 | 122 | 16 | 6 | 1 | 7 | 1022 | 122 |
| Centres de Santé | 149 | 62 | 59 | 51 | 4 | 1 | 1 | 2 | | | | 59 | 7 |
| CH Cayenne | 1334 | 870 | 845 | 603 | 96 | 12 | 112 | 12 | 5 | | 7 | 845 | 100 |
| CH Saint Laurent | 569 | 242 | 39 | 33 | 3 | | | 2 | | 1 | | 39 | 12 |
| Labo Kourou | 1231 | 9 | 9 | 7 | | 1 | 1 | | | | | 9 | 2 |
| Labo Saint Laurent | 251 | 16 | 12 | 11 | | 1 | | | | | | 12 | |
| Labos Ile de Cayenne | 1610 | 61 | 58 | 41 | 5 | 1 | 10 | | 1 | | | 58 | 1 |
| Martinique | 10 | | | | | | | | | | | | |
| Guadeloupe | 121 | | | | | | | | | | | | |
| Total général | 5275 | 1260 | 1022 | 746 | 108 | 16 | 122 | 16 | 6 | 1 | 7 | 1022 | 122 |

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

L'augmentation de la proportion d'IgM positives anti Flavivirus observée en 2023 (augmentation d'un facteur proche de 3 par rapport à 2022) s'est poursuivie en 2024 (passage de 10% à 24% des prélèvements testés), en rapport avec la poursuite de la circulation épidémique de la dengue (2023-2024), tandis que la proportion d'IgM positives anti Alphavirus reste stable et faible (autour de 3% des prélèvements testés).

Tableau 22. Prélèvements reçus en 2024 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques Zika réalisées, et les résultats obtenus

| ORIGINE | Total plvts reçus en 2024 | Sérologie Zika | | |
|----------------------|------------------------------|----------------------|-----------|-----------|
| | | Nbre Plvts testés | % IgM Pos | % IgG Pos |
| Guyane | 5144 | 384 | 5,7% | 53% |
| Centres de Santé | 149 | 17 | 5,9% | 59% |
| CH Cayenne | 1334 | 129 | 7,0% | 50% |
| CH Saint Laurent | 569 | 227 | 5,3% | 54% |
| Labo Kourou | 1231 | 0 | | |
| Labo Saint Laurent | 251 | 6 | 0,0% | 50% |
| Labos Ile de Cayenne | 1610 | 5 | 0,0% | 40% |
| Martinique | 10 | | | |
| Guadeloupe | 121 | | | |
| Total général | 5275 | 384 | 5,7% | 53% |

CNR-LA-LR

L'année 2024 a été marquée par l'apparition de cas d'infection par le virus Chikungunya, alors que le dernier cas autochtone détecté à La Réunion remontait à plus d'une dizaine d'année. Les premiers cas ont été détectés fin aout 2024. Au cours de l'année le nombre de cas est resté limité à quelques foyers dans l'Ouest et le Sud de l'île et le nombre de cas recensés en 2024 est de 145 (confirmés pour la plupart au CNR associé LR). Le niveau 2B du dispositif ORSEC « arboviroses » correspondant à une « intensification de la circulation virale autochtone et risque d'évolution en épidémie » a été activé le 18/12/2024. A noter que le niveau 3 du dispositif ORSEC « arboviroses » (« épidémie de faible intensité ») a été activé dès le 13/01/2025 devant une augmentation et une dispersion géographique des foyers de chikungunya. Le début de l'année 2025 a été marquée par une augmentation exponentielle du nombre de cas.

Pour la majorité des cas déclarés en 2024 un échantillon a été envoyé au CNR associé LR pour confirmation et séquençage (115 séquences de CHIKV obtenus).

Le séquençage a permis de montrer qu'il s'agit d'une seule et même souche responsable des infections au CHIKV. Les séquences appartiennent au clade ECSA (East Central South African) et diffèrent des souches responsables de l'épidémie de 2006 à La Réunion et de celles qui ont circulé en 2010 sur l'île.



Figure 15. Répartition géographique des cas d'infections par le virus chikungunya à La Réunion en 2024.
Données ARS, exploitation SpF.

Il n'y a pas eu d'épidémie de Dengue en 2024. Sur l'année, 1303 cas ont été confirmés à la Réunion, avec la détection majoritaire d'un sérotype unique, le DENV2 comme en 2023. 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. Les cas ont concerné essentiellement l'Ouest (50 % des cas) et le Sud (44 % des cas) de l'île. Le Nord a été concerné dans une moindre mesure avec 6 % des cas notifiés sur la période.

Le CNR-LA-LR a réalisé le typage et/ou le séquençage pour plus de 1000 cas déclarés.

La circulation du virus de la dengue s'est traduite par :

- 181 passages aux urgences pour dengue
- 85 hospitalisations
- 4 décès directement liés à la dengue recensés

37 cas importés ont été signalés au retour de voyage (Maurice, Rodrigues, les Antilles, les Comores)

Tableau 23 : Bilan des données de surveillance de la Dengue à la Réunion en 2024. Données du point épidémiologique Dengue Régional 2024, SPF Réunion. Données ARS, exploitation SpF.

| | 2024 | 2023 | 2022 (S48) | 2021 |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Cas confirmés | 1303 | 218 | 1 183 | 29 577 |
| Saison épidémique (pic) | Absence d'épidémie | Absence d'épidémie | Absence d'épidémie | S8-S26 (S19) |
| Région la plus touchée | Ouest | Sud | Sud | Ouest |
| Passages aux urgences | 181 | 70 | 190 | 4 077 |
| Décès | 4 | 0 | 3 | 33 |

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

CNR-METROPOLE

Avec la mise en place d'un suivi génomique systématique pour tous les cas positifs en biologie moléculaire et en culture cellulaire, le CNR-METROPOLE a mis en place une surveillance systématique des mutations associées à de la résistance à une molécule antivirale contre la dengue en cours de développement, le mosnodenvir. En analysant les génomes du virus de la dengue (DENV) provenant de l'épidémie en cours dans les Antilles françaises des Caraïbes, nous avons montré qu'ils présentent tous la mutation NS4B:V91A, précédemment associée à une forte résistance au mosnodenvir *in vitro*. En utilisant des tests d'activité antivirale sur des souches cliniques issues de l'épidémie, nous avons confirmé une diminution d'un facteur 600 de la sensibilité au mosnodenvir. Enfin, en combinant l'analyse phylogénétique de séquences de dengue 2 et de dengue 3 à des tests de résistance *in vitro*, nous avons montré que la mutation de résistance V91A est probablement apparue plusieurs fois au cours des 30 dernières années au sein des sérotypes 2 et 3 des virus de la dengue. Ces résultats font l'objet d'une publication dans Nature Communications (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39384752/>).

CNR-LA-IPG

Non applicable

CNR-LA-LR

Non applicable

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

CNR-METROPOLE

Le CNR-METRO contribue à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France et les antennes régionales de SpF à travers des interactions hebdomadaires voire quotidiennes autour des cas autochtones en période de surveillance renforcée, 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, Oropouche).

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) ou sur le site internet du CNR Arbovirus 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.

Lors de la période de surveillance renforcée, le CNR-METROPOLE participe aux réunions hebdomadaires pilotées par la CORRUS (cellule d'aide à l'application des mesures du SECPROCH), auxquelles participent SpF, EFS, ABM, ANSES et éventuellement les opérateurs de LAV. Ces échanges permettent de fluidifier la communication et de faire un point de situation hebdomadaire sur

Le CNR est 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-METRO est également laboratoire de référence européen pour les arbovirus (EURL PH VBZ) au sein d'un consortium de 5 laboratoires européens (Pays-Bas, France, Grèce, Slovénie et Italie).

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 Dengue, Chikungunya 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 Alertes).

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 le site Internet de Santé Publique France (SpF) 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.

Le CNR-LA-IPG est membre du réseau français multidisciplinaire Arbo-France depuis 2019, il est également membre du réseau RELDA (Arbovirus Diagnosis laboratory Network of the Americas) de la PAHO.

Le laboratoire collabore au quotidien avec

*Santé publique France via :

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

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

CNR-METROPOLE

En Nouvelle Aquitaine un consortium de recherche pluridisciplinaire s'est mis en place en 2023 et s'est maintenu en 2024. Ce consortium inclut le CHU de Bordeaux, la DDPP33, l'ANSES, le CNR Arbovirus et les chercheurs de l'IRBA travaillant sur la détection des arbovirus dans les moustiques. Les investigations menées en 2023 ont permis de démontrer la circulation des virus WNV et USUV dans les moustiques de plusieurs localités de deux départements de Nouvelle Aquitaine (Gironde et la Charente Maritime, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39724146/>). Le CNR a contribué à la confirmation des cas humains mais également à la détection des génomes viraux (WNV et USUV) chez les moustiques, à l'isolement des souches virales et leur séquençage (détails en paragraphe 7.1 Travaux de recherche et publication).

Le CNR est sollicité pour la confirmation de cas de West Nile / Usutu lorsque le DGV de l'EFS est positif ainsi que pour les tests rétrospectifs des dons de sang dans les régions touchées par les virus West Nile, Usutu ou dengue.

Il a contribué à des études de séroprévalence nationales chez 50,000 donneurs de sang dont les résultats pour les virus de l'encéphalite à tiques, West Nile et Usutu dont les résultats sont en cours de consolidation.

CNR-LA-IPG

Non applicable

CNR-LA-LR

Non applicable

4. Alertes

CNR-METROPOLE

Le CNR-METRO effectue ses signalements et alertes directement auprès de la DMI de SpF (par téléphone et/ou email) et aux CIRES concernées. Un message sur nos compte rendu est systématiquement ajouté pour inciter les biologistes et cliniciens à la déclaration obligatoire des cas.

Détection du virus Oropouche chez des voyageurs au retour de Cuba

Voir § 3.2.3

Détection du virus West Nile lors de la qualification de greffe

Le CNR a apporté son expertise dans le cadre de deux suspicions d'infections par le virus West Nile chez deux donneurs d'organes. Une concertation d'urgence a été mise en place afin de définir la conduite à tenir, incluant les équipes de greffes, les experts du CNR-METRO, les infectiologues référents et le cas échéant l'ANSM pour évaluer la pertinence et la faisabilité de l'utilisation de traitement à titre compassionnel.

Détection du virus West Nile chez un patient résidant en Guadeloupe

Un cas de West Nile a été détecté chez un patient présentant une atteinte neurologique et résident en Guadeloupe. Le diagnostic a été posé sur une PCR positive dans les urines à J+5, des IgM intra-thécaux et sériques et une séroconversion IgG. Il s'agissait d'un génotype 1. Cette information venait consolider les données issues de la surveillance animale, qui avait identifié la circulation de ce virus sur plusieurs chevaux.

CNR-LA-IPG

Le CNR-LA-IPG effectue un signalement, adressé par e-mail à l'ARS (ars973-alerte@ars.sante.fr ou ars-guyane-veille-sanitaire@ars.sante.fr) et SPF Guyane (guyane@santepubliquefrance.fr) pour tout événement inhabituel.

En 2024, les détections d'infection par un arbovirus autre que Dengue, Chikungunya et Zika : 4 nouveaux cas d'infection par un OBV du serogroupe C, 4 cas d'infections par un virus Mayaro ainsi qu'un cas de fièvre jaune post vaccination ont fait l'objet d'un signalement pour information (cf. chapitre 3)

CNR-LA-LR

Expertise à propos :

- D'un cas de réactivation de dengue chez une patiente immunodéprimée, 2 ans après sa primo-infection (Article soumis avec le Dr. L. Di Acsia, néphrologue)
- De sérologies faussement positives en LABM pour des IgM Chikungunya .
- De PCR positives en LABM pour le virus Chikungunya.

- D'une investigation concernant les cas de dengue de type 2 circulant dans le sud de l'île. Les analyses génomiques (séquençage par la technique Oxford Nanopore) ont montré que ce virus DENV2 appartient au génotype 2 cosmopolitain, mais diffère de celui qui a circulé de 2017 à 2020 à La Réunion (également génotype 2 cosmopolitain) et de celui qui circule aux Antilles (également génotype 2 cosmopolitain).
- Du début d'une épidémie de Chikungunya, pour laquelle le séquençage a permis de montrer qu'il s'agit d'une seule et même souche responsable des infections au CHIKV. Les séquences appartiennent au clade ECSA (East Central South African) et diffèrent des souches responsables de l'épidémie de 2006 à La Réunion et de celles qui ont circulé en 2010 sur l'île. Concernant l'analyse du génome, la mutation E1-A226V, conférant une adaptation aux moustiques *Aedes albopictus*, est bien présente. L'analyse phylogénétique des séquences obtenues est en cours. Au niveau de la circulation, des cas d'ECSA avec cette mutation A226V ont été observés en 2018 au Cameroun (B Agbodzi et al., 2021).
- Du séquençage d'une souche de DENV de type 3 chez un patient revenant de Guadeloupe afin de vérifier si elle était proche des souches actuellement en circulation aux Antilles.

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

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

CNR-METROPOLE

Le CNR-METRO dispose d'un site internet (www.cnr-arbovirus.fr) qui 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 rendus. 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 afin de leur expliquer pourquoi leurs prélèvements ont été adressés au CNR, ainsi que la possibilité de modifier et supprimer les données les concernant.

Une page sur le site web collecte les bilans des évaluations de kits de PCR et sérologie réalisés au CNR-METRO.

Le CNR est toujours à la disposition des professionnels de santé pour répondre à tous leurs questionnements.

En 2023, de nombreuses prestations de conseils techniques ont été réalisées à destination des CH et CHU (détails en paragraphes 2.2 Travaux d'évaluation des techniques et 2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires).

Pour des questions plus médicales, un infectiologue référent prend le relais : Dr Carole Eldin, infectiologue à l'Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille ; Dr Denis Malvy, CHU de Bordeaux ; Dr Alexandre Duvignaud, CHU de Bordeaux.

Dans le cadre de suspicion de transmission du virus West Nile par greffe d'organe, une concertation d'urgence est mise en place afin de définir la conduite à tenir, incluant les équipes de greffes, les experts du CNR-METRO, les infectiologues référents et le cas échéant l'ANSM pour évaluer la pertinence et la faisabilité de l'utilisation de traitement à titre compassionnel.

CNR-LA-IPG

L'Institut Pasteur de la Guyane dispose d'un site internet : 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 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, a minima, hebdomadaire. Le CNR-LA IPG participe également régulièrement à des réunions d'information destinées aux professionnels de Santé.

Afin de mettre en avant l'expertise CNR du CHU Réunion, ont été réalisés :

- une mise à jour de la fiche d'information CNR Arbovirus (envois, missions, RGPD, ...) mise à disposition sur le manuel de prélèvement <https://lbm-chureunion.manuelprelevement.fr/>
- un affichage spécifique sur le portail web du CHU Réunion <https://www.chu-reunion.fr/service/hla-copy/>
- une mise à jour des fiches sur le manuel de prélèvement ; dengue, chikungunya, fièvre jaune, West-Nile, Rift, zika. Des fiches d'information pour la prescription du typage/séquençage dengue/chikungunya ont par ailleurs été créées des fiches. Enfin, une fiche d'information pour la prescription de la recherche du virus Oropouche a été créé.

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.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

CNR-METROPOLE

Le CNR-METRO a participé aux saisines du HCSP suivantes:

- Recommandations Dengue: Révision de la conduite à tenir relative à la sécurisation des greffons
- Saisine relative aux mesures de sécurisation des substances d'origine humaine lors de la circulation du virus du chikungunya
- Recommandations Virus West Nile-Saison 2024 : Actualisation de la liste des pays devant motiver des mesures de dépistage pour les donneurs y ayant séjourné
- Mesures de sécurisation des produits et éléments issus du corps humain vis-à-vis du virus Oropouche
- Mesures de prévention pour les voyageurs vis-à-vis de la maladie à virus Oropouche, relecture de la fiche COREB
- Plan d'anticipation vis à vis du risque d'émergence du virus Oropouche dans les DFA

Le CNR métropole a participé et contribué aux réunions hebdomadaires CAD SECPROCH organisées par le CORRUSS. Il a également participé à plusieurs saisines du HCSP :

- Avis sur la conduite à tenir relative à la sécurisation des produits issus du corps humain et notamment des greffons vis-à-vis du virus de la dengue du 19/12/24
- Avis relatif à la circulation du virus Oropouche en Amérique latine et dans les Caraïbes et aux mesures de sécurisation des produits et éléments issus du corps humain du 19/12/24
- Avis relatif à la circulation du virus Oropouche en Amérique latine et dans les Caraïbes, aux recommandations sanitaires pour les voyageurs et à la prise en soins des personnes infectées du 07/11/24
- Mise à jour provisoire de la liste "a priori" des pays au sein de l'Union européenne (UE) et hors UE devant motiver une contre-indication temporaire ou des mesures de dépistage des donneurs y ayant séjourné, en rapport avec le virus West Nile (WNV), saison 2024, du 30/09/24
- Conduite à adopter vis-à-vis des donneurs de sang, d'organes, de tissus ou de cellules ayant séjourné dans un pays non endémique pour la dengue mais ayant déclaré des cas de dengue autochtone, du 01/08/24
- Évaluation du dispositif de prévention vis-à-vis du virus West Nile et du virus de la dengue mis en place au sein de l'Établissement français du sang à l'occasion des Jeux olympiques et paralympiques de Paris 2024, du 27/06/24
- Courrier d'actualisation de la liste "a priori" des pays devant motiver une contre-indication temporaire ou des mesures de dépistage en rapport avec le virus West Nile, saison 2024, du 29/05/24
- Avis sur la sécurisation des produits d'origine humaine vis-à-vis du risque de transmission du virus Usutu, du 25/01/24

Le CNR-METRO a apporté son expertise à l'ANSM pour l'organisation d'un contrôle national de qualité des méthodes de diagnostic moléculaire des arbovirus en 2024. Le CNR a participé au choix des examens biologiques à tester et à l'élaboration de la liste des LBM. Les cibles retenues étaient les virus chikungunya, Zika et les quatre de sérotypes de dengue, à tester dans des matrices sanguine et/ou urine. Il a ensuite produit les échantillons nécessaires (N=13) sous forme lyophilisée en s'appuyant sur la plateforme EVAM (European Virus Archive Marseille platform) pour envoi à 28 laboratoires participants. Le CNR a apporté son expertise pour l'analyse des résultats et l'élaboration du rapport final.

Le CNR METRO a également apporté son expertise à la HAS concernant les recommandations relatives au vaccin contre le virus de la dengue en fournissant des données détaillées concernant le degré de proximité génétique entre les souches vaccinales incluses dans les diverses formulations vaccinales et la diversité génétique virale circulant dans les territoires ultra-marins.

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
- Participation à différents groupes de travail Oropouche (DGS.)
- Membre du Comité maladies infectieuses émergentes (CMIE) en Guyane
- Membre du réseau RELDA (Arbovirus Diagnosis laboratory Network of the Americas) de la PAHO

CNR-LA-LR

Réunion avec ARS Réunion /SpF/infectiologues le 2/12/24 pour l'organisation et prévision des protocoles en vue d'une épidémie de chikungunya

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

CNR-METROPOLE

Article de presse sur le retour du chikungunya à La Réunion (interview du Pr de Lamballerie) par Philippe Le Claire du Quotidien de La Réunion ; entretien centré sur les évolutions en termes de préparation et contre-mesures depuis d'épidémie de 2005-2006.

CNR-LA-IPG

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

CNR-LA-LR

Rien à signaler.

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

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

CNR-METROPOLE

Participation au projet LS-Dengue. G. Grard, X de Lamballerie, R Klitting

Ce projet crée, à l'initiative du réseau Arbo-France, un consortium rassemblant l'ensemble des territoires ultra-marins inter-tropicaux français pour l'étude de la dengue avec deux points spécifiques : la génomique et la caractérisation des formes graves (incluant la recherche de biomarqueurs prédictifs). Il s'agit du premier projet de recherche national intégrant tous les partenaires ultra-marins dans une étude commune de biologie-santé, et porté par le CHU de la Martinique (Pr A Cabié). Le financement est assuré par le PEPR-MIE.

Participation au projet ARBOGENE. X de Lamballerie, R Klitting

Ce projet vise à stimuler, organiser et soutenir l'activité de génomique (recherche et surveillance) en arbovirologie dans l'ensemble des territoires français. Il repose sur la mise en commun d'une base de données dédiée et d'outils d'analyse. Le projet a été financé par la fondation MSD-Avenir et opère en étroite collaboration avec l'UMS Inserm-AMU EMERGEN.

Projet de recherche sur le diagnostic et la surveillance des arbovirus émergents, et notamment les virus de l'encéphalite équine vénézuélienne, Oropouche, Wesselsbron, et O'Nyong Nyong

Travail initié en 2022 au sein de l'unité de virologie de l'IRBA. G. Grard

Recherche sur l'amélioration de la méthode buvard pour le diagnostic des arbovirus.

Travail initié en 2024 au sein de l'unité de virologie de l'IRBA. G. Durand

CNR-LA-IPG

Finalisation et valorisation des travaux sur l'analyse de l'évolution de la diversité génétique des virus Dengue 2 et Dengue 3 aux Antilles et en Guyane : rétrospective de 2000 à 2023.

Lagrange A, Enfissi A, Tirera S, Pierre Demar M, Jaonaso J, Carod JF, Ramavoson T, Succo T, Carvalho L, Devos S, Dorleans F, Leon L, Berlioz-Arthaud A, Musso D, Klitting R, de Lamballerie X, Lavergne A, Rousset D. Genetic evolution of DENV2 in the French territories of the Americas: A retrospective study from the 2000s to the 2024 epidemic, including a comparison of amino acid changes with vaccine strains. *Vaccines* 2025, 13(3), 264; <https://doi.org/10.3390/vaccines13030264>

Lagrange A, Enfissi A, Tirera S, Pierre Demar M, Jaonaso J, Carod JF, Ramavoson T, Succo T, Carvalho L, Devos S, Dorleans F, Leon L, Berlioz-Arthaud A, Musso D, Lavergne A, Rousset D. Re-emergence of DENV-3 in French Guiana: Retrospective analysis of cases that circulated in the French Territories of the Americas from the 2000s to the 2023-2024 outbreak. Viruses 2024, 16, 1298. <https://doi.org/10.3390/v16081298>

CNR-LA-LR

- **Projet de recherche sur les hantavirus à La Réunion**

Ce projet en cours de mise en place vise à déterminer l'éventuelle atteinte clinique des hantavirus dans la population réunionnaise. Il est mené en collaboration avec l'Institut Pasteur et le Dr Séverine Matheus.

- **Participation à l'appel à projets ReCH-MIE 2024**

Une contribution a été apportée à la discussion de l'appel à projets de recherche clinique hospitalière dédié aux maladies infectieuses émergentes et réémergentes (ReCH-MIE 2024). Ce projet, déposé par le Pr Bertolotti du CHU de La Réunion, porte sur l'évaluation de l'efficacité en vie réelle du vaccin TAK-003 contre la dengue dans les départements et régions d'outre-mer, à travers une étude de cohorte de phase IV.

- **Thèse de science sur le virus du chikungunya**

Le Dr Ambroise Mercier, AHU, a entamé une thèse de science portant sur le virus de la chikungunya. Ce travail est réalisé au laboratoire de microbiologie du CHU de La Réunion, sous la direction du CNR Arbovirus LR, en collaboration avec l'UMR PIMIT de l'Université de La Réunion.

- **Étude sur la réponse humorale et la persistance virale chez les greffés rénaux ayant eu la dengue**

Une étude est en cours pour évaluer la réponse humorale (sérologie) et la persistance virale (dans l'urine et le sang) chez les patients greffés rénaux. Ce projet est mené en collaboration avec le Dr Ludovic Di Ascia, néphrologue.

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-METROPOLE

(i) Publications nationales

Néant.

(ii) Publications internationales

1. Bigeard C, **Pezzi L, Klitting R, Ayhan N**, L'Ambert G, Gomez N, et al. Molecular Xenomonitoring (MX) allows real-time surveillance of West Nile and Usutu virus in mosquito populations. PLoS Negl Trop Dis. déc 2024;18(12):e0012754.
2. Bouzidi HS, Sen S, Piorkowski G, **Pezzi L, Ayhan N**, Fontaine A, et al. Genomic surveillance reveals a dengue 2 virus epidemic lineage with a marked decrease in sensitivity to Mosnodenvir. Nat Commun. 9 oct 2024;15(1):8667.
3. **Klitting R**, Piorkowski G, Rousset D, Cabié A, Frumence E, Lagrave A, et al. Molecular epidemiology identifies the expansion of the DENV2 epidemic lineage from the French Caribbean Islands to French Guiana and mainland France, 2023 to 2024. Euro Surveill. mars 2024;29(13):2400123.
4. Le Hir A, **Durand GA**, Boucraut J, Garnier A, Mura M, Diamantis S, et al. Yellow fever vaccine-associated neurologic and viscerotropic disease: a 10-year case series of the French National Reference Center for Arboviruses with clinical and immunological insights. J Travel Med. 1 mars 2024;31(2):taad160.
5. Marquine S, **Durand GA**, Modenesi G, Khouadhria S, Piorkowski G, Badaut C, et al. Sequence Data From a Travel-Associated Case of Microcephaly Highlight a Persisting Risk due to Zika Virus Circulation in Thailand. J Infect Dis. 14 févr 2024;229(2):443-7.
6. Viginier B, **Klitting R**, Galon C, Bonnefoux V, Bellet C, Fontaine A, Brottet É, Paty MC, Mercurolo A, Ragozin N, Moutailler S, **Grard G, de Lamballerie X**, Arnaud F, Ratnien M, Raquin V. Peri-domestic entomological surveillance using private traps allows detection of dengue virus in *Aedes albopictus* during an autochthonous transmission event in mainland France, late summer 2023. Euro Surveill. 2024 Sep;29(36):2400195. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.36.2400195. PMID: 39239729; PMCID: PMC11378516.
7. Frumence E, Wilkinson DA, **Klitting R**, Vincent M, Mnemosyme N, **Grard G**, Traversier N, Li-Pat-Yuen G, Heaugwane D, Souply L, Giry C, Paty MC, Collet L; Local Laboratory Network; Gérardin P, Thouillot F, **De Lamballerie X**, Jaffar-Bandjee MC. Dynamics of emergence and genetic diversity of dengue virus in Reunion Island from 2012 to 2022. PLoS Negl Trop Dis. 2024 May 20;18(5):e0012184. doi: 10.1371/journal.pntd.0012184. PMID: 38768248; PMCID: PMC11142707.
8. Hawa Sophia Bouzidi, Selin Sen, Géraldine Piorkowski, **Laura Pezzi, Nazli Ayhan**, Albin Fontaine, **Thomas Canivez, Manon Geulen**, Rayane Amaral, **Gilda Grard, Guillaume André Durand, Xavier de Lamballerie**, Franck Touret, Raphaëlle Klitting. Genomic surveillance reveals a dengue 2 virus epidemic lineage with a marked decrease in sensitivity to Mosnodenvir. Nat Commun. 2024 Oct 9;15(1):8667. doi: 10.1038/s41467-024-52819-z.
9. Wesselmann KM, Postigo-Hidalgo I, **Pezzi L**, de Oliveira-Filho EF, Fischer C, **de Lamballerie X**, Drexler JF. Emergence of Oropouche fever in Latin America: a narrative review. Lancet Infect Dis. 2024 Jul;24(7):e439-e452. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00740-5. Epub 2024 Jan 25. PMID: 38281494

(iii) Communications nationales

Virus chikungunya et Zika. Webinaire REMIC'S de la Société Française de Microbiologie. Guillaume Durand, 14/11/2024

Situation épidémiologique des arbovirus en métropole, volet humain. Séminaire Arbo-France du 10/12/2024. Guillaume Durand, en collaboration avec Florian Franke.

Epidémiologie moléculaire de la dengue en France métropolitaine, 2022-2024. Congrès RICAI, 17/11/2024
Laura Pezzi

Genomic surveillance reveals a dengue 2 virus epidemic lineage with a marked decrease in sensitivity to Mosnodenvir, Congrès RICAI, 17/11/2024 Raphaëlle Klitting

(iv) Communications internationales

Néant.

(v) Conférences sur invitation

Néant.

CNR-LA-IPG

(i) Publications nationales : (2)

1. Thomas C, Pichard C, Rousset D, Demar M, Djossou F, Sanna A, Dudognon L, Nacher M, Pujo JM, Michaud C, Gaillet M, Kallel H, Epelboin L Cas fatal de co-infection par le virus de la fièvre jaune et le SARS-CoV2 pendant la pandémie de Covid-19 de 2020 en Guyane. MTSI, 2024. DOI : 10.48327/mtsi.v4i3.2024.445
2. Lavergne A, Enfissi A, Rousset D. Oropouche virus : towards a future emergence? Virologie 2024 Jun1; 28(3) :179-181. doi: 10.1684/vir.2024.1055.

(ii) Publications internationales (6)

1. Lagrange A, Enfissi A, Tirera S, Pierre Demar M, Jaonaso J, Carod JF, Ramavoson T, Succo T, Carvalho L, Devos S, Dorleans F, Leon L, Berlioz-Arthaud A, Musso D, Klitting R, de Lamballerie X, Lavergne A, Rousset D. Genetic evolution of DENV2 in the French territories of the Americas: A retrospective study from the 2000s to the 2024 epidemic, including a comparison of amino acid changes with vaccine strains. *Vaccines* 2025, 13(3), 264; <https://doi.org/10.3390/vaccines13030264>
2. Epelboin L, Talaga S, Enfissi A, Desmoulin A, Gaertner C, Gertler M, Duchemin JB, Le Turnier P, Rousset D. Mayaro virus infections in European field researchers in the remote Amazon rainforest, French Guiana, 2024. *AJTMH*, 2025 in press.

3. Lagrange A, Enfissi A, Tirera S, Pierre Demar M, Jaonaso J, Carod JF, Ramavoson T, Succo T, Carvalho L, Devos S, Dorleans F, Leon L, Berlioz-Arthaud A, Musso D, Lavergne A, Rousset D. Re-emergence of DENV-3 in French Guiana: Retrospective analysis of cases that circulated in the French Territories of the Americas from the 2000s to the 2023-2024 outbreak. *Viruses* 2024, 16, 1298.
<https://doi.org/10.3390/v16081298>
4. Raphaëlle Klitting, Géraldine Piorkowski, Dominique Rousset, André Cabié, Etienne Frumence, Alisé Lagrange, Anne Lavergne, Antoine Enfissi, George Dos Santos, Laurence Fagour, Raymond Césaire, Marie-Christine Jaffar-Bandjee, Nicolas Traversier, Patrick Gérardin, Rayane Amara, Lucie Fournier, Lucie Leon, Frédérique Dorléans, Muriel Vincent, arbovirus genomics diagnostic laboratories working group, Albin Fontaine, Anna-Bella Failloux, Nazli Ayhan, Laura Pezzi, Gilda Grard, Guillaume André Durand, Xavier de Lamballerie. Molecular epidemiology identifies the expansion of the DENV2 epidemic lineage from the French Caribbean Islands to French Guiana and mainland France, 2023 to 2024. *Eurosurveillance*, 2024, www.eurosurveillance.org, 29 (13), pp.2400123. 10.2807/1560-7917.es.2024.29.13.2400123
5. Guidez A, Fontaine A, Yousfi L, Moutailler S, Carinci R, Issaly J, Gaborit P, Cannet A, de Laval F, Matheus S, Rousset D, Dusfour I, Girod R, Briolant S. Noninvasive detection of Zika virus in mosquito excreta sampled from wild mosquito populations in French Guiana. *J Med Entomol*. 2024 Feb 26:tjae016.
<https://doi.org/10.1093/jme/tjae016>
6. Guillaume Velut, Franck de Laval, Morgane Berry, Frédérique Dufour Gaume, Nathalie André, Loïc Epelboin, Anne Lavergne, Antoine Enfissi, Felix Djossou, Dominique Rousset, and Sébastien Briolant. Etiologies of Acute Febrile Illnesses in Adults among Defense Community, French Guiana. *AJTMH* 2024 Feb 20:tpmd220638. doi: 10.4269/ajtmh.22-0638.

— **Communications nationales (6):**

1. **A Lagrange**, S Tirera, A Enfissi, A Lavergne, D Rousset : « Emergence et réémergence du virus de la dengue en Guyane et aux Antilles françaises ». Assises Guyanaises d'Infectiologie et de médecine Tropicale – Cayenne le 15-18 Oct 2024.
2. **A Enfissi** : « Orthobunyavirus du séro groupe C en Guyane Française, une circulation encore méconnue » Assises Guyanaises d'Infectiologie et de médecine Tropicale – Cayenne le 15-18 Oct 2024.
3. **D Rousset** : « Stratégie et capacités diagnostiques dans les TFA (Antilles et Guyane) : Point sur le diagnostic OROV au CNR-Cayenne ». CTSA Antilles, 05/09/2024
4. **A Enfissi**, A Lavergne, D Rousset : « Surveillance génomique, virus respiratoires – arbovirus DFA ». Séminaire Emergen, le 06/06/2024.
5. **D Rousset** : « Stratégie et capacités diagnostiques dans les TFA (Antilles et Guyane) : Point sur le diagnostic OROV au CNR-Cayenne ». CTSA Antilles, 05/09/2024
6. **A Lagrange**, S Tirera, A Enfissi, A Lavergne, D Rousset : « Analysis of the genomic diversity of DEN-2 and DEN-3, retrospective from 2000 to 2023 in French Guiana and the French » – Séminaire IPG – 25.01.2024

(iv) **Communications internationales NA**

(v) **Conférences sur invitations.**

1. **D Rousset** : « Arboviroses(ré) émergentes en Guyane ». Assises Guyanaises d'Infectiologie et de médecine Tropicale – Cayenne le 15-18 Oct 2024.
2. **D Rousset** : « Circulation of bunyaviruses and poorly studied flaviviruses: a perspective based on the French Guiana experience ». Workshop scientifique franco-brésilien sur les arbovirus « Enhancing Global Arboviruses Preparedness and Response Through Research Collaboration », Belem, Brazil le 30 -31/10/2024.

(i) **Publications nationales**

Néant

(ii) **Publications internationales**

Frumence E, Wilkinson DA, Klitting R, Vincent M, **Mnemosyme N**, Grard G, **Traversier N**, **Li-Pat-Yuen G**, Heaugwane D, Souply L, **Giry C**, Paty MC, Collet L, Local Laboratory Network, Gérardin P, Thouillot F, de Lamballerie X, **Jaffar-Bandjee MC**. Dynamics of Emergence and Genetic Diversity of Dengue Virus in Reunion Island from 2012 to 2022. PLoS Negl Trop Dis. 2024 May 20;18(5):e0012184. doi: 10.1371/journal.pntd.0012184.

Di Ascia L, **Frumence E**, **Traversier N**, Saint-Pastou C, Grard G, Vacher-Coponat H, de Lamballerie X, **Jaffar-Bandjee MC**. Dengue reactivation in an immunocompromised patient reveals a paradigm shift toward dengue as a chronic infection. (soumission en cours)

Raphaëlle Klitting, Géraldine Piorkowski, Dominique Rousset, André Cabié, Etienne Frumence, Alisé Lagrave, Anne Lavergne, Antoine Enfissi, George Dos Santos, Laurence Fagour, Raymond Césaire, **Marie-Christine Jaffar-Bandjee**, **Nicolas Traversier**, Patrick Gérardin, Rayane Amara, Lucie Fournier, Lucie Leon, Frédérique Dorléans, Muriel Vincent, arbovirus genomics diagnostic laboratories working group, Albin Fontaine, Anna-Bella Failloux, Nazli Ayhan, Laura Pezzi, Gilda Grard, Guillaume André Durand, Xavier de Lamballerie. Molecular epidemiology identifies the expansion of the DENV2 epidemic lineage from the French Caribbean Islands to French Guiana and mainland France, 2023 to 2024. Eurosurveillance., 29 (13), pp.2400123. 10.2807/1560-7917.es.2024.29.13.2400123

Communications nationales

néant

Communications internationales

néant

Conférences sur invitation :

Journée Recherche sur la Dengue, Présentation de MC. Jaffar, Hôtel NESS, Saint-Gilles, 22 novembre 2024. 3^e Colloque Mayotte en Santé

Présentation de E. Frumence, Mayotte, 11 septembre 2024. Abstract publié : Étude de la diversité génétique du virus de la dengue à La Réunion de 2012 à 2022. Liens avec les pays de la zone de l'océan Indien et de l'Asie (DOI : 10.1016/j.mmifmc.2025.01.042).

Séminaire EMERGEN 2.0. Présentation de E. Frumence, Lyon, 6 juin 2024 : Surveillance génomique du virus de la dengue à La Réunion.

Comité Scientifique et Technique CIRAD Réunion. Présentation de E. Frumence, Saint-Pierre, 14 février 2024 : Le séquençage des pathogènes émergents au CHU de La Réunion : focus sur la surveillance génomique du virus de la dengue.

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

CNR-METROPOLE

Le CNR métropole collabore étroitement avec les acteurs de surveillance des arbovirus dans le secteur animal :

- Le laboratoire de Référence des arbovirus (LNR, ANSES)
- La recherche sur les méthodes de surveillance de circulation des arbovirus chez les moustiques (UVE, IRBA)

CNR-LA-IPG

- Coopération avec le Laboratoire d'entomologie de l'IPG
- Coopération avec le Laboratoire Hygiène Environnement (LHE) de l'IPG pour la mise en place d'un laboratoire d'épidémiologie dans les eaux usées (laboratoire Epid'EAU) avec participation au consortium Obépine+.
- Coopération avec les laboratoires de santé animale et de sécurité sanitaire des aliments : non applicable

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-METROPOLE

- Poursuite de la mutation technologique avec accroissement des tests disponibles en routine. Notamment développement de systèmes combinés (plusieurs systèmes testés dans la même réaction PCR). Au moment de la rédaction de ce document, les systèmes suivants ont été mis en place : CHIMATO (CHIKV, MAYV, TONV) pour l'Amérique Latine, CHIKORI (CHIKV, ONNV, RVFV) pour l'Afrique, CHIKROSS (CHIKV, RRV) pour l'Asie du sud-est et l'Océanie, EEVSLEV (EEEV, WEEV, VEEV, SLEV) pour le continent Américain.
- Poursuite de l'extension des virus et méthodes accréditées selon la norme ISO 15189
- Poursuite de la politique d'évaluation de kits.
- Participation aux projets de recherche : LSDengue, CHIKV-RE-VAC
- Régler le problème des analyses réalisées dans le cadre des greffes.
- Travail collaboratif avec l'ARS Mayotte sur la cohorte EpiMay

CNR-LA-IPG

- Renforcement des capacités de séquençage avec mise au point de techniques NGS-MinION pour les Orthobunyavirus
- Poursuite de la restructuration de la collection du CNR-LA-IPG (souches récentes mais aussi anciennes, avec caractérisation génétique)
- Participation aux projets de recherche :
 - SeroBHAG : Séroprévalence des Orthobunyavirus (développement d'outils Luminex et études de séroprévalence en population humaine (collection Epi-ARBO/ Epi-COVID) et animale (collection LIVH).
 - LSDengue/ Arbogen : Déterminants de la Dengue grave dans les territoires français ultramarins.

Détection de la circulation des arbovirus (génomés viraux et anticorps) dans l'environnement / eaux usées – (réseau Obépine+ / projet Epid'EAU).

CNR-LA-LR

Année N+1 :

- 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.
- Optimisation de la multiplex WestNile/Rift/fièvre jaune et comparaison avec la technique commerciale sur automate M10
- **Optimisation du typage dengue afin de faire une multiplex plutôt que 4 simplex**

Année N+2:

- Projet de développer une technique de sérologie multiplexe de type Magpix.
- Développement d'une technique de métagénomique pour l'identification de virus à ARN

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-METROPOLE

Tableau 24. Effectifs et ETP du CNR-METRO en 2025.

| Noms et Prénoms | Qualifications | Fonctions | ETP | Organisme payeur |
|-----------------------|--------------------|--|------|------------------|
| Xavier de Lamballerie | PU-PH | 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, plateforme sérologie | 1,00 | INSERM |
| Laura Pezzi | PhD | Responsable scientifique d'équipe, plateforme biologie moléculaire | 1,00 | INSERM |
| Raphaëlle Klitting | PhD | Responsable scientifique d'équipe, plateforme génomique | 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 |
| Mélissa Rupert | M1 | Assistante Ingénieur | 0,8 | INSERM |
| Mélissa Venot | BTS, en alternance | Technicien laboratoire | 0,50 | INSERM |

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

Tableau 25. Effectifs et ETP du CNR-LA-IPG en 2025

| Nom | Prénom | Fonction | Qualification | Organisme Payeur | ETP CNR arbovirus |
|------------|------------|--|---------------|------------------|-------------------|
| Rousset | Dominique | Responsable | MD, PhD | IP Paris | 0.65 |
| Enfissi | Antoine | Responsable adjoint | PhD | IP Guyane | 0.3 |
| Lavergne | Anne | Responsable adjoint | PhD | IP Paris | 0.2 |
| Peyrefitte | Christophe | Responsable adjoint (jusque nov 2024) | PhD | IP Paris | 0.02 |
| Labeau | Bhétý | Technicienne (sérologie) | BTS | IP Guyane | 0.9 |
| Brémand | Laetitia | Technicienne (Biol mol) | BTS | IP Guyane | 0.2 |
| Cabanne | Léa | Technicienne (à partir de juillet .2024) | BTS | IP Guyane | 0.6 |
| Lagrange | Alisé | Ingénieur | Ingénieur | IP Guyane | 0.6 |
| Tirera | Sourakhata | Bioinformaticien | PhD | IP Guyane | 0.05 |
| Briand | Dominique | Secrétaire | | IP Guyane | 0.4 |

CNR-LA-LR

Tableau 26. Effectifs et ETP du CNR-LA-LR en 2025

| 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 |
| Gourde | Anne-Julie | Technicienne de laboratoire | BTS | CHU | 1 |
| Lhoneur | Rubens | Technicien de laboratoire | BTS | CHU | 1 |
| Mnémosyme | Nicolas | Bioinformaticien | BTS | CHU | 0.20 |

1.3 Locaux et équipements

CNR-METROPOLE

Locaux

Le CNR-LC est installé au sein de l'UVE. Les locaux principaux se situent dans l'Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) et sont complétés par des locaux situés à la faculté de médecine jouxtant l'IHU, et comprenant une duplication des laboratoires et équipements essentiels

Le CNR a accès à l'ensemble des locaux et équipements de l'UVE, avec son activité principale située à l'IHU comme décrit ci-dessous.

IHU 1er étage



Figure 16. Plan des locaux (1er étage) du CNR-METRO

1. Bureaux (60 m²) dont bureaux du CNR
2. Laboratoire (72 m²) : préanalytique et sérologie du CNR
3. Plateforme de sérologie de l'EFS (72 m²)
4. Laboratoire (53 m²) : salle blanche pour la lyophilisation des systèmes de biologie moléculaire
5. Laboratoire (82 m²) : protéines recombinantes
6. Laboratoire (69 m²) : protéines recombinantes
7. Laboratoire (95 m²) : culture cellulaire (activité CNR) et laboratoire NSB2
8. Laboratoire (71 m²) : plateforme de sérologie automatisée

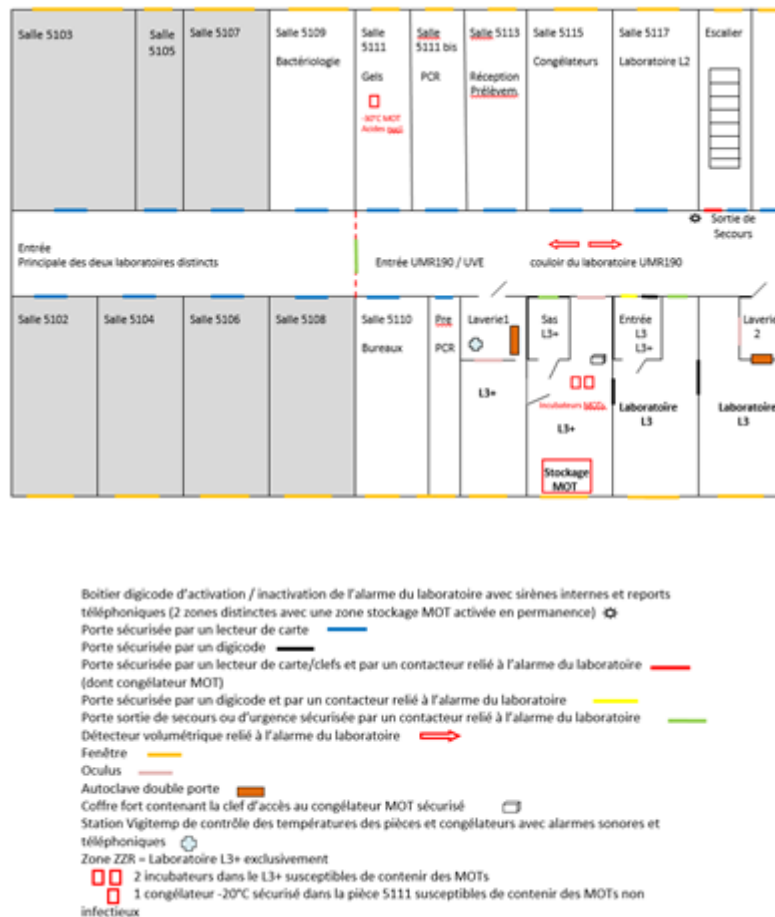


Figure 19. Représentation schématique des locaux à la faculté de médecine (Aix-Marseille Université) du CNR-METRO

- 1 laboratoire NSB3
- 1 laboratoire NSB3+ ouvert aux MOTs et indépendant du précédent
- 1 Laboratoire NSB2
- 1 centre de ressources biologique en cours de qualification
- Collection de matériel biologique de l'UVE
- Collection de matériel biologique de la plateforme European Virus Archive (EVA)

Liste des principaux équipements

Sérologie IHU

- Chaîne de sérologie manuelle dupliquée incluant laveurs de plaque et spectrophotomètres
- Automate EuroImmun I2-P (n=2, capacité 2x96 échantillons)
- Automate EuroImmun EuroLabWorkstation (n=1, capacité 15 x96 échantillons)
- Automates pipeteurs eppendorf epMotion (n=2)
- Chaîne de criblage sérologique (en cours de duplication) : automate pipeteur EpMotion couplé à un automate Luminex

Sérologie Faculté de médecine

- Chaîne de sérologie manuelle incluant laveur de plaque et spectrophotomètre en zone agréée MOT

Biologie moléculaire

- Automates pipeteurs (QIAgility n=2)
- Extracteurs : QIAcube (n=3), QIA Symphony (n=2), EZ1 (n=1), EZ2 (n=2)
- Thermocycleurs : CFX (n=8), QuantStudio 12 (n = 3)
- Automate intégré pour l'extraction et la détection des acides nucléiques : Panther Fusion (n=2)
- Ligne de lyophilisation des systèmes de qRT-PCR (matériel dédoublé)

Séquençage IHU

- NGS IonTorrent : Ion Chef system (n=1), S5 Ion torrent instrument (n=1), dupliqué sur le site de la faculté de médecine

Culture Cellulaire et laboratoire NSB2 IHU

- Poste de sécurité biologique (n=8)
- Incubateurs (n=6)

Laboratoire NSB2 Faculté de médecine

- Poste de sécurité biologique (n=4)
- Incubateurs (n=4)

Laboratoire NSB3 IHU

1 module indépendant composé de 6 box, dont 2 dédiés au CNR

Box équipés (n=6) : 2 PSM, 2 incubateurs, un microscope inversé pour chaque box.

Chaine de séroneutralisation semi-automatisée : automates pipeteurs/distributeurs (n=2) et un lecteur automatique d'effet cytopathique équipé d'un logiciel d'intelligence artificielle

Laboratoire NSB3 Faculté de Médecine

1 laboratoire NSB3

1 laboratoire NSB3+ ouvert aux MOT et indépendant du précédent

CNR-LA-IPG

Locaux

Le CNR-LA-IPG est installé au sein du laboratoire de virologie de l'IP Guyane qui dispose d'une superficie globale de 310 m² répartie entre bureaux et laboratoires (cf. Figure ci-dessous).



Figure 20. Plan général du laboratoire de virologie (IPG)

- Pièce 248 : réception, aliquotage des échantillons, sérologie (35 m²)
- Pièces 246 et 247 : laboratoires NSB2, culture cellulaire, et isolement (virus de classe 2) (total 25 m²)
- Pièce 245 : stockage froid (10 m²)
- Pièces 244 et 244b : biologie moléculaire, préparation des mix, et extraction (20 m²)
- Pièce 243 : sérologie (20 m²)
- Pièces 201 à 204 : laboratoire NSB3 (70 m²)
- Pièces 206 à 208 : bureaux (60 m²)

A l'extérieur du laboratoire

Le laboratoire de virologie dispose d'une salle dédiée à la conservation des collections avec 4 enceintes -80°C et 3 -20°C.

Il partage également avec l'ensemble des équipes de l'Institut, une plateforme technique commune (PTC Biologie moléculaire) et a accès, au sein du Laboratoire des Interactions Virus-Hôtes (LIVH), à des équipements mutualisés de biologie moléculaire et de séquençage.



Figure 21. Plan de la plateforme technique commune et du LIVH

Le CNR-LA-IPG peut également bénéficier des services de l'animalerie souris de l'IPG.

Equipements :

Pour la sérologie

1 PSM de type II, 1 centrifugeuse réfrigérée, 1 étuve, 3 laveurs de plaques, 2 lecteurs de plaque, 1 station Magpix (Luminex, Xmap Technology)

Pour la biologie moléculaire :

1 PSM de type II, 1 centrifugeuse réfrigérée haute vitesse, 3 thermocycleurs de PCR en temps réel (2 Roche LC480 II et 1 Applied Biosystems ABI7300)

Pour le séquençage :

1 Extracteur Easy-Mag (Biomérieux), 1 séquenceur MinION (Oxford Nanopore), 2 thermocycleurs (GeneAmp 9700 Applied Biosystems, SimpliAmp Applied Biosystems)

Pour la culture cellulaire (hors LSB3) :

2 PSM de type II, 1 centrifugeuse réfrigérée, 2 étuves et 2 incubateurs à CO₂, 2 microscopes inversés.

Enceintes thermiques :

Au total (hors LSB3) : 8 -20°C et 6 -80°C

Equipements LSB3 :

2 PSM type II, 1 centrifugeuse réfrigérée, 1 étuve, 1 incubateur à CO₂, 1 microscope inversé avec station d'acquisition d'image, enceintes thermiques (1 +4°C, 1 -20°C, et 1 -80°C).

CNR-LA-LR

Rien de nouveau à signaler en 2024 sur les locaux.

Equipements :

Pour la Biologie moléculaire :

- 4 Extracteurs Easy-Mag (Biomérieux)
- 3 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 MinION (Oxford Nanopore) avec la possibilité d'utiliser le MiniSEQ du service de Génétique et l'illumina

1.4 Collections de matériel biologique

CNR-METROPOLE

Cf annexe 4

CNR-LA-IPG

Cf annexe 4

CNR-LA-LR

Le CNR LR possède 219 souches isolées de virus de la Dengue et 14 souches isolées du virus chikungunya en 2024. Des souches de référence fournies par le CNR coordonnateur (CHIKV, ONNV, DENV1 à 4, WNV), obtenues auprès du Pr. P. Gasque de l'Université de La Réunion (SINV, SFV, ONNV, RRV), ainsi que la souche vaccinale de la fièvre jaune (YF-17D) sont conservées.

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). A cet effet, courant 2023, nous avons créé une biothèque spécifique pour nos isolats issus de culture cellulaire avec une anonymisation.

La biothèque de prélèvements (sérum et plasma) du CNR LR est composée de plus de 5000 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 boîtes de 81 tubes)
- en sérologie, conservation de tous les sérums pendant 2 ans avant transfert au CRB (congélateur 53925, 12 boîtes de 81) , convention avec le CRB en cours
- de rappeler la nécessité d'un signalement à Spf en cas d'altération des biothèques
- de savoir où est situé le fichier historique des biothèques (lien NAS avec accès restreint, fichier protégé par mot de passe)

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/isolats existants pour le CNR ainsi que la position exacte dans la biothèque (congélateur, boîte, position dans la boîte).

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-METROPOLE

Le laboratoire est accrédité par le COFRAC (n° d'accréditation 8-4083) selon la norme NF EN ISO 15189 depuis 2018 en portée B flexible pour les analyses suivantes présentée dans le tableau 2 présenté plus haut et reporté ci-après.

Tableau. Portée détaillée du CNR-METROPOLE (ISO 15186)

| BM VB01 - BIOLOGIE MEDICALE / MICROBIOLOGIE / VIROLOGIE SPÉCIALISÉE | | | | |
|--|---|--|---|---|
| Site(Site) | Examen / analyse (Examination / analysis) | Nature de l'échantillon biologique/de la région anatomique(Nature of the biological sample/of the anatomical region) | Principe de la méthode(Principle of the method) | Nature de l'évolution (ajout, changement affectant les performances de la méthode, ...) et Remarque(Remarks) |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Dengue | plasma, sérum | Extraction sur automate E22 Qiagen ou manuelle (QIAamp Viral RNA Mini Kit). Amplification sur N= 2 thermocycleurs CFX Bio Rad | Accrédité depuis le 01/01/2018 avec la méthode d'extraction manuelle. Ajout de l'automate d'extraction E22 Qiagen et changement de procédure d'amplification au 11/03/2024. |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Zika | plasma, sérum, urine, | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 20/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Dengue | plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/06/2023 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Fièvre Jaune | plasma, sérum, urine | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Chikungunya | plasma, sérum | Extraction sur automate E22 Qiagen ou manuelle (QIAamp Viral RNA Mini Kit). Amplification sur N= 2 thermocycleurs CFX Bio Rad | Accrédité depuis le 01/01/2018 avec la méthode d'extraction manuelle. Ajout de l'automate d'extraction E22 Qiagen et changement de procédure d'amplification au 11/03/2024. |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR encéphalite japonaise | plasma, sérum, urine | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 29/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Toscana | plasma, sérum, urine | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 16/02/2024 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther Chikungunya | plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/06/2023 |
| CNR des Arbovirus | RT-PCR Panther West Nile | plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé | Détection automatisée d'acides nucléiques sur automate Panther Fusion System | Adaptation des systèmes d'amorces et sondes "maison" sur les cartouches ouvertes Fusion Hologic. Ajout le 26/06/2023 |
| BM MG01 - BIOLOGIE MEDICALE / MICROBIOLOGIE / MICROBIOLOGIE GÉNÉRALE | | | | |
| Site(Site) | Examen / analyse (Examination / analysis) | Nature de l'échantillon biologique/de la région anatomique(Nature of the biological sample/of the anatomical region) | Principe de la méthode(Principle of the method) | Nature de l'évolution (ajout, changement affectant les performances de la méthode, ...) et Remarque(Remarks) |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Dengue CNR "maison" | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) manuelle | Accrédité depuis le 01/01/2018 |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Dengue Euroimmun | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) automatisée avec coffrets Euroimmun et N=2 automatiques Euroimmun I2P | Ajout le 26/06/2023 |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Chikungunya CNR "maison" | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) manuelle | Accrédité depuis le 01/01/2018 |
| CNR des Arbovirus | Sérologie Chikungunya Euroimmun | plasma, sérum | Méthode Immuno-enzymatique (ELISA) automatisée avec coffrets Euroimmun et N=2 automatiques Euroimmun I2P | Ajout le 26/06/2023 |

Le laboratoire a été audité par le Cofrac les 27 et 28 mars 2024. Ce fut le premier audit de cette mandature. Ainsi de nombreux éléments avaient évolués depuis le dernier audit, aussi bien organisationnels que techniques. Les points forts soulignés par les évaluateurs étaient :

- Maîtrise globale du SIL IRBA : Développements adaptés aux besoins et aux évolutions, réactivité dans les mises à jour (à venir : recueil des non-conformités pré-analytiques permettant de déployer de nouveaux indicateurs qualité pré-analytiques, pré-saisie des fiches de renseignements cliniques).
- Le suivi des fiches d'action corrective ou préventive est réalisé de façon contentieuse et pertinente.
- Toutes les réclamations émanant de l'enquête satisfaction ont été traitées individuellement et nominativement. Les réponses sont disponibles dans le rapport accessible sur le site internet.
- Checklists pour accueil des nouveaux arrivants, réunions mensuelles, vérification qualité hebdomadaire (Listes de vérification)
- Depuis juillet 2023, le CNR Arbovirus réalise un suivi génomique de la circulation du virus de la dengue, en particulier dans les Antilles

Trois écarts ont été notifiés :

4. Un non critique concernant des éléments manquant dans le dossier de validation de méthode de l'automate Euroimmun. Cet écart a été requalifié critique par le cofrac à posteriori. La réponse apportée par le CNR-METROPOLE a permis de lever cet écart.
5. Un non critique concernant la gestion des incertitudes de mesures pour les tests ELISA en sérologie manuelle
6. Un non critique concernant une pipette en retard de vérification

Le laboratoire a obtenu l'accréditation selon la norme ISO 15189 version 2022, valide jusqu'au 28 février 2026.

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 renouvellement d'accréditation jusqu'au 30/09/2028 (attestation N°8-3373 rév. 13) a été obtenu suite à l'audit COFRAC de renouvellement de juillet 2023.

En 2024, le laboratoire a évolué vers la norme NF EN ISO 15189 version 2022. Par ailleurs, les techniques de détection des génomes du Chikungunya et du Zika ont été multiplexées et cette multiplex a été accréditée.

Le prochain audit COFRAC (audit de surveillance et de transition vers la nouvelle norme) est prévu en février 2025.

Le CNR-IPG participe à différents contrôles de qualité externe (OMS, PAHO,...) 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 accréditée depuis 2019 pour les sérologies Chikungunya et Dengue (IgG/IgM)

La ligne de portée BM MG06 (séquençage haut débit NGS) est accréditée depuis 2024.

L'envoi des données de séquençage dans le SIL par une connexion directe a été finalisée afin de sécuriser la saisie des données. Des accès restreints sur le SIL ont par ailleurs été paramétrés en 2024 pour la partie séquençage.

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. En 2023, 100% de résultats satisfaisants pour le chikungunya et 90% pour la dengue. En 2024, 100% de résultats étaient conformes pour l'EEQ dengue validant l'amélioration de la sensibilité de la technique suite à son optimisation réalisée fin 2023 (Cf 2.1 Evolution des techniques). En 2024, 80% des résultats étaient conformes pour l'eeq chikungunya (100% pour échantillons core, 2 FN en éducatif).

Le laboratoire a également participé à l'essai de contrôle national de qualité de biologie moléculaire (Dengue, Chikungunya, Zika) avec 100% de bonnes réponses.

Les sérologies dengue sont évaluées à l'aide de l'EEQ Labquality depuis 2017. De 2021 à 2024, les résultats sont conformes à 100%.

Pour 2024, le CHU s'est également inscrit à l'EEQ ARBO24 de QCMD pour la détection et détermination d'Arbovirus incluant Flavi-, Toga-, Bunya-, and/or Reoviridae. Le CNR-LR a obtenu 80% de résultats satisfaisants ; 1 FN (éch n° 10) en virus Toscana et un échantillon rendu virus sandfly fever Naples au lieu de virus sandfly fever Toscana (analyse non encore utilisée en routine et en cours d'optimisation pour analyse en métagénomique).

Pour 2025, le laboratoire prévoit d'ajouter l'évaluation des PCR fièvre jaune et West Nile (EEQ qcnd).

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

CNR-METROPOLE

Techniques disponibles en sérologie :

- ELISA "in house" sur antigène inactivé produit en laboratoire NSB3 : IgM (MAC-ELISA) et IgG (ELISA indirect)- Accrédité Cf paragraphe 1.5
- ELISA automatisé sur automate EuroImmun I2P et EuroLabWorkstation – Accrédité Cf paragraphe 1.5
- ELISA automatisé sur automate Lotus (Virclia)
- Séroneutralisation
- Détection de l'antigène NS1 dengue circulant

Techniques disponibles en Biologie moléculaire :

- Détection de l'ARN viral par RT-qPCR, y compris typage - Accrédité Cf paragraphe 1.5
- Détection de l'ARN viral sur plateforme Panther Fusion par TMA ou RT-qPCR - Accrédité Cf paragraphe 1.5
- Séquençage NGS IonTorrent

Autre :

- Isolement viral sur lignées cellulaires de moustiques ou de mammifères, ou sur modèle animal
- Titrage viral (TCID)
- Production et validation de réactifs sérologiques (antigènes, protéines virales recombinantes)

Tableau 27. Liste des techniques disponibles au CNR-METRO. Pour la liste des analyses accréditées ISO 15189, se référer au Tableau 4 (page 10)

| Virus | Biologie moléculaire (1) | Sérologie (2) |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------|
| Chikungunya | ✓ | ✓ |
| Dengue | ✓ (3) | ✓ (4) |
| Encéphalite équine de l'ouest | ✓ | |
| Encéphalite équine de l'est | ✓ | (✓) |
| Encéphalite équine Vénézuélienne | ✓ | (✓) |
| Encéphalite Saint Louis | ✓ | (✓) |
| Fièvre hémorragique de Crimée-Congo | ✓ | ✓ |
| Encéphalite japonaise | ✓ | ✓ |
| Fièvre jaune | ✓ | ✓ |

| | | |
|-----------------------------|---|---------|
| Fièvre de la Vallée du Rift | ✓ | ✓ |
| Mayaro | ✓ | ✓ |
| Encéphalite Murray Valley | ✓ | ✓ |
| Oropouche | ✓ | (✓) (5) |
| Tonate | ✓ | ✓ |
| Toscana | ✓ | ✓ |
| O Nyong Nyong | ✓ | (✓) (6) |
| Ross River | ✓ | ✓ |
| Encéphalite à tique | ✓ | ✓ |
| Usutu | ✓ | ✓(6) |
| Sand Fly Sicilian | ✓ | (✓) |
| Sand Fly Naples | ✓ | (✓) |
| Semliki Forest | | (✓) |
| Wesselsbron | ✓ | (✓) |
| Sindbis | ✓ | (✓) |
| Barmah Forest | ✓ | |
| West Nile | ✓ | ✓ |
| Zika | ✓ | ✓ |

- (1) Biologie moléculaire sur automate Panther (Hologic), EZ2/CFX
(2) Sérologies IgM et IgG : ELISA maison et sur automate (Euroimmun, Virclia)
(3) PCR pan-dengue et typage
(4) ELISA et détection de l'antigène NS1 dengue circulant
(5) Kit commercial RUO
(6) IgG uniquement
(...) résultats sous réserve car absence de contrôles positifs

CNR-LA-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, Oxford Nanopore Technology)

Autre :

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

Tableau 28. 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 |
| Alphavirus | | | | | |
| | Chikungunya | ■* | ■ | ■ | ■* |
| | Tonate | ■ | | ■ | ■ |
| | Mayaro | ■ | ■ | ■ | ■ |
| Flavivirus | | | | | |
| | Fièvre jaune | ■ | ■ | ■ | ■ |
| | Dengue | ■ | ■ | ■ | ■* |
| | Dengue typage | | | | ■* |
| | West Nile | ■ | | ■ | ■ |
| | Encéphalite de Saint Louis | ■ | | ■ | ■ |
| | Encéphalite japonaise (JEV) | . | . | . | ■ |
| | Ilheus (/Rocio) | . | . | . | ■ |
| | Zika | ■ | ■ | ■ | ■* |
| | | | | | |
| Bunyavirus | | | | | |
| | Oropouche | ■ | ■ | ■ | ■ |
| | Orthobunyavirus SGC | . | . | ■ | ■ |

CNR-LA-LR

Technique disponibles 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

Techniques disponibles en biologie moléculaire :

- Techniques RT-PCR “maison” simplex (techniques transférées du CNR-LC) : Encéphalite Japonaise, Virus de l'encéphalite à tique
- Kit Altona RT-PCR Zika
- Technique RT-PCR « maison » triplex Fièvre de la Vallée du Rift, West-Nile, Fièvre Jaune
- 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 des génomes complet des virus la dengue (1-4), zika et chikungunya par séquençage Oxford Nanopore
- STANDARD™ M10 Arbovirus Panel (DENV from 4 serotypes, ZIKV, CHIKV, YFV and WNV)

Virologie :

- Production d'isolats de virus sur lignées cellulaires Vero

2.1 Liste des techniques recommandées par le CNR

CNR-METROPOLE

Une page sur le site web du laboratoire met à disposition les rapports d'évaluation de kits de sérologie et de RT-qPCR testés par le CNR.