

RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITE 2024

Année d'exercice 2023

CNR Arbovirus

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	Institut National de la Santé et de la recherche médicale	Xavier de Lamballerie
Laboratoire Associé	Institut de Recherche Biomédicale des Armées	Gilda Grard
Laboratoire Associé	Institut Pasteur de la Guyane - Cayenne	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
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	15
2.4 Collections de matériel biologique	16
2.5 Activités d'expertises	18
2.6 Activités de séquençage	27
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	34
 3. Activités de surveillance	 35
3.1 Description du réseau de partenaires	35
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	38
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	47
 4. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	 49
4.1 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	50
 5. Alertes	 52
 6. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	 53
6.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	53
6.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	54
6.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	54
 7. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	 55
7.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	55
7.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	56
 8. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	 59

9. Programme d'activité pour les années suivantes	60
1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR.....	61
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	61
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	62
1.3 Locaux et équipements.....	63
1.4 Collections de matériel biologique	70
1.5 Démarche qualité du laboratoire.....	72
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	74
2.1 Liste des techniques de référence.....	74
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR	76

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

L'année 2023 a été une année record pour la dengue avec plus de 5 millions de cas rapportés au niveau mondial, parmi lesquels plus de 4 millions dans les Amériques (4.4 Millions - source WHO). Dans ce contexte, dans les Départements Français des Amériques (DFA) après une année 2022 très calme en dehors de l'apparition de foyers épidémiques de Dengue en Guadeloupe en fin d'année, l'année 2023 a vu le redémarrage d'épidémies de Dengue dans tous les territoires. La Martinique et la Guadeloupe connaissent une épidémie due à une lignée unique de virus de dengue 2 avec des introductions à Saint Barthélemy et Saint Martin. Cette lignée épidémique s'est également établie en Guyane au milieu d'une épidémie de dengue 3.

La métropole a enregistré 45 cas autochtones de dengue répartis en 9 foyers distincts : 4 foyers en PACA, 3 en Occitanie, 1 en ARA et pour la première fois un foyer en Île de France. Quatre foyers étaient dus à la dengue 2 importée des Antilles, deux foyers étaient dus à deux importations différentes de dengue 1, un foyer était dû à la dengue 3, et le sérotype impliqué n'a pas pu être identifié pour les deux foyers restants. Un épisode de transmission de la dengue via transplantation d'organes a également été enregistré en Ile de France.

Par ailleurs la métropole a enregistré un nombre record de cas autochtones d'infection par les virus West Nile et/ou Usutu avec 53 cas confirmés, dont 29 cas de WNV et 16 cas USUV. Huit cas supplémentaires n'ont pu être classés en raison des réactions croisées observées en PCR et sérologie. De surcroît le virus WN a émergé pour la première fois en Nouvelle Aquitaine avec 20 cas confirmés.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

2023 was a record year for dengue fever, with more than 5 million cases reported worldwide, including more than 4 million in the Americas (4.4 million - source WHO). In particular, in the French Departments of the Americas (DFAs), after a very calm 2022, apart from the appearance of outbreaks of dengue fever in Guadeloupe at the end of the year, 2023 saw the resurgence of dengue fever epidemics in all territories. Martinique and Guadeloupe are experiencing an epidemic caused by a single lineage of dengue 2 virus, with introductions to Saint Barthélemy and Saint Martin. This epidemic lineage has also become established in French Guiana, amidst an epidemic of dengue 3.

In mainland France, 45 autochthonous cases of dengue infection were recorded across 9 separate virus circulation events: 4 circulation events in the PACA region, 3 in Occitanie, 1 in ARA and, for the first time, an event of autochthonous dengue circulation was recorded in the Île de France region (IdF). Four events resulted from imports of dengue 2 from the French Caribbean Islands, two events were due to two separate imports of dengue 1, one event was due to dengue 3. For the two remaining circulation events, the serotype could not be identified. An episode of dengue transmission via organ transplantation was also recorded in IdF.

Metropolitan France also recorded a record number of autochthonous infections with the West Nile and/or Usutu viruses, with 53 confirmed cases, including 29 cases of WNV and 16 cases of USUV. Eight additional cases could not be classified due to the cross-reactivity of the PCR and serology tests used. In addition, the WN virus emerged for the first time in New Aquitaine, with 20 confirmed cases.

1. Missions et organisation du CNR

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

CNR-METRO : 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

CNR-METRO

Depuis le 1er janvier 2023 avec le nouveau mandat du CNR, le CNR de métropole est constitué de deux entités fonctionnant en totale intrication, tant du point de vue des ressources humaines, que de l'infrastructure et des équipements (Tableau 1) : le CNR-LC (laboratoire coordonnateur) porté par l'Inserm et le CNR-LA (laboratoire associé) porté par l'IRBA. Leurs activités sont indistinguables. Ce mode de fonctionnement a permis de renforcer les effectifs et les performances du CNR de métropole, avec en particulier la création de 3 postes en CDI pour des chercheurs responsables scientifiques de haut niveau.

En 2023, le CNR métropole était composé de (Figure 1) :

- 5 personnels INSERM sous la direction du Pr Xavier de Lamballerie : 3 chercheurs post-doctorants experts en biologie moléculaire, sérologie et génomique ; un technicien de laboratoire ; une assistance qualité
- 5 personnels IRBA sous la direction de Gilda Grard : un médecin biologiste, 4 techniciens de laboratoire dont un responsable qualité

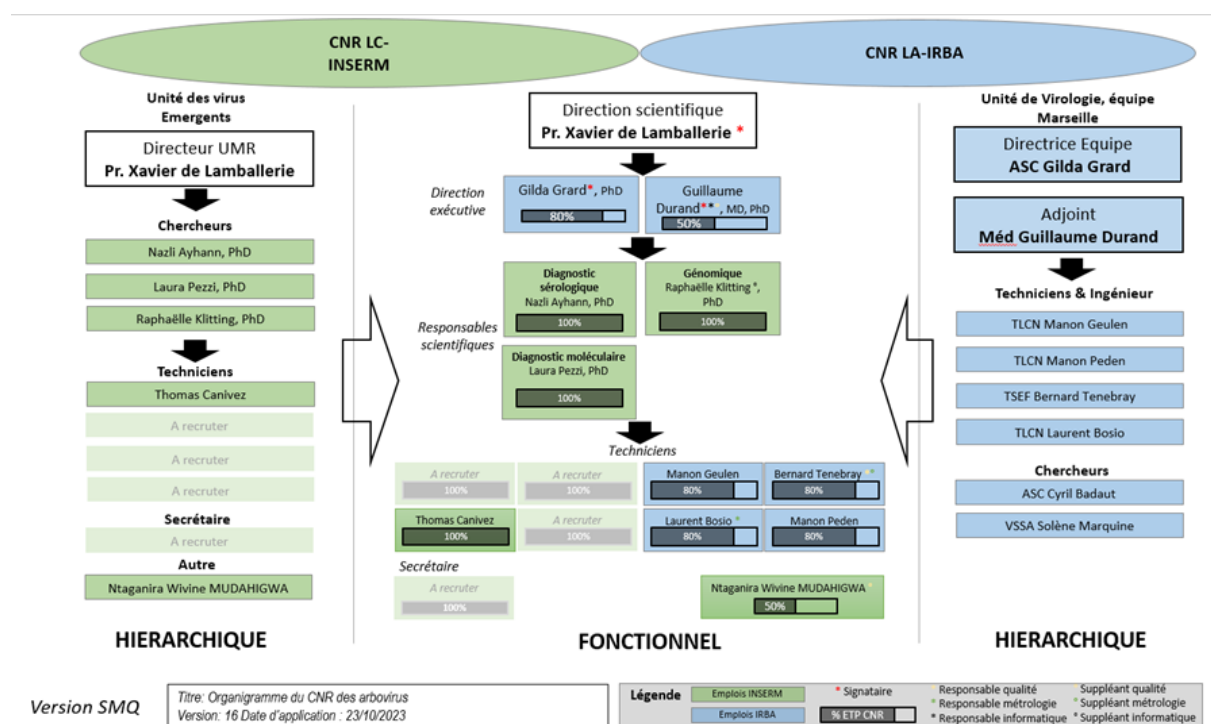


Figure 1. Organigramme du CNR Arbovirus métropole en 2023

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 Venot *	BTS, en alternance	Technicien laboratoire	0,50	INSERM

Tableau 1. Personnels affectés aux activités du CNR Arbovirus en métropole à partir de 2023. Pour des raisons administratives et financières le CNR de métropole est supporté par 2 organismes (laboratoire coordonnateur Inserm et laboratoire associé IRBA) dont les personnels et activités fonctionnent de façon totalement imbriquée comme une seule et unique entité fonctionnelle.

* Personnel arrivé au laboratoire en novembre 2023.

CNR-LA-IPG

En 2023, avec le début du nouveau mandat, l'organigramme du CNR-LA-IPG a évolué avec :

- Une direction scientifique étoffée avec plusieurs responsables adjoints.
- Des mouvements de personnels au sein de l'équipe technique avec :
 - les départs de 2 techniciens supérieurs de laboratoire : Mme Ho (Février 2023), et Mr Moua (en disponibilité depuis juin 2022 / fin de contrat en juin 2023) .
 - l'arrivée d'une ingénieure : Mme Lagrave (mars 2023)
 - une période d'essai non concluante pour un 2^{ème} ingénieur, (septembre 2023 à février 2024)

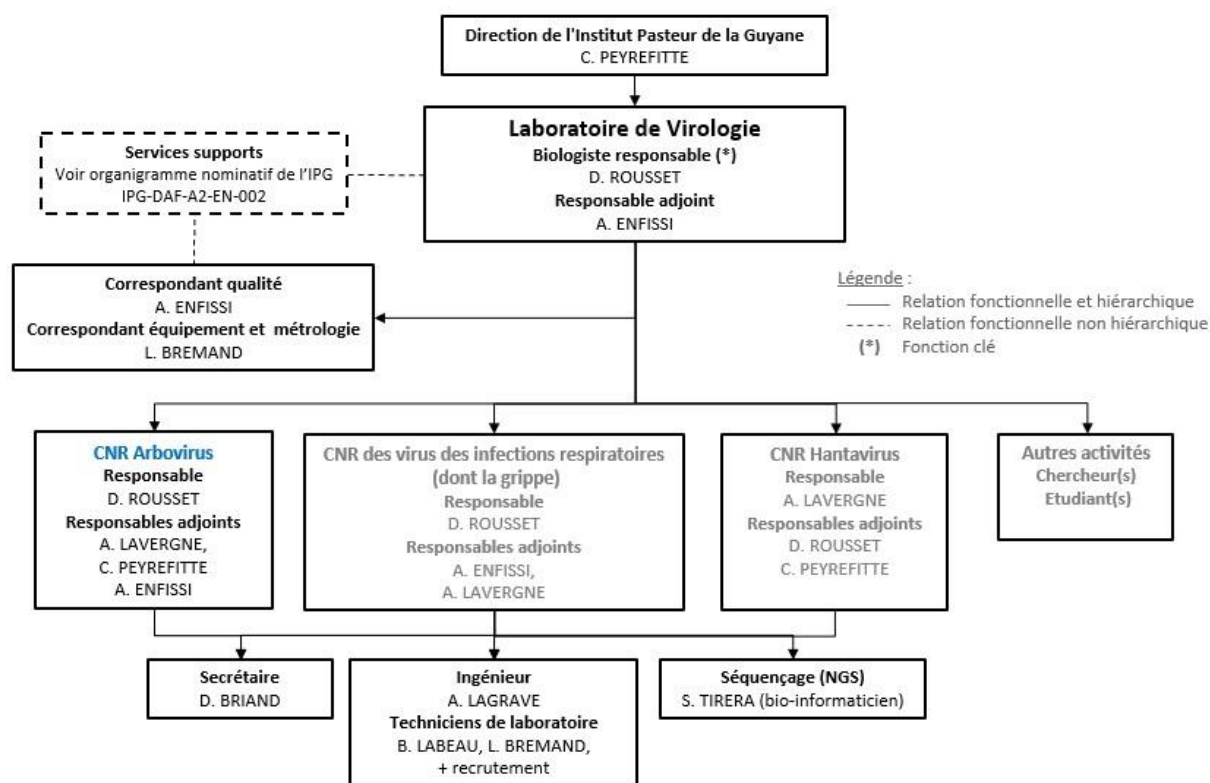


Figure 2 : Organigramme du laboratoire de virologie hébergeant le CNR Arbovirus, laboratoire associé IP Guyane en décembre 2023.

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	PhD	IP Paris	0.02
Labeau	Bhétty	Technicienne (sérologie)	BTS	IP Guyane	0.9
Brémand	Laetitia	Technicienne (Biol mol)	BTS	IP Guyane	0.2
Ho	Valérie	Technicienne (jusque 02.2023)	BTS	IP Guyane	0.8
Lagrange	Alisé	Ingénieur (à partir de 03.2023)	Ingénieur	IP Guyane	0.8
Lichtenstein	Timothée	Ingénieur (à partir de 09.2023)	Ingénieur	IP Guyane	0.4
Tirera	Sourakhata	Bioinformaticien	PhD	IP Guyane	0.05
Briand	Dominique	Secrétaire		IP Guyane	0.4

Tableau 2 : Effectifs et ETP du CNR-LA-IPG en 2023

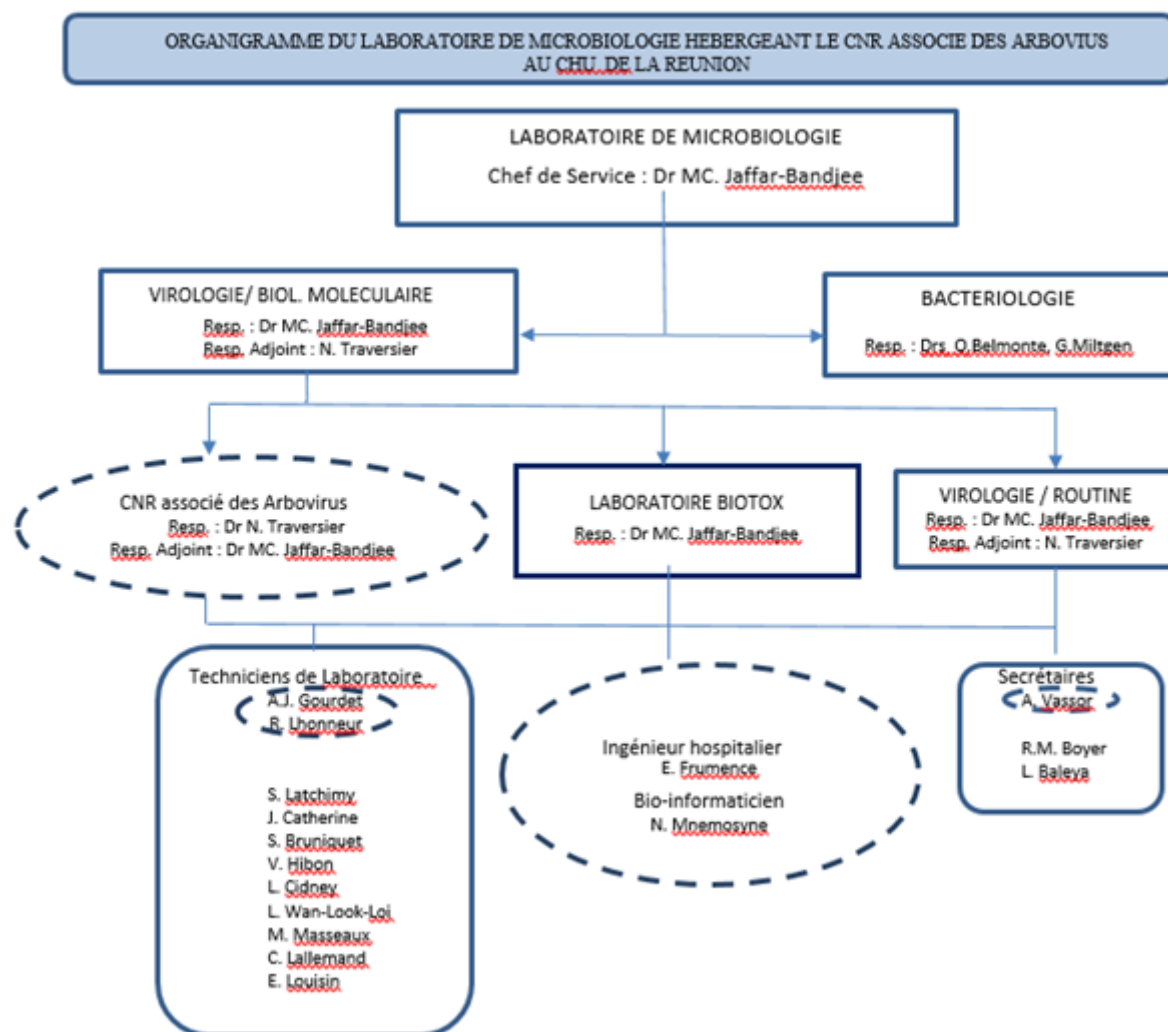


Figure 3.

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	BTS	CHU	0.20

Tableau 3.

Modifications par rapport à 2022 :
Gourde Anne-Julie remplace Lallemand Claudia
Lhonneur Rubens remplace Louisin Elisema

Mission et Organisation

Voir Annexe 1

Démarche Qualité

CNR-METRO

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 :

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

En juin 2023, le laboratoire a évolué sur le plan technique, avec l'ajout à notre portée d'accréditation de :

- sérologie chikungunya par technique Euroimmun, sur plasma et sérum
- sérologie dengue par technique Euroimmun, sur plasma et sérum
- RT-PCR chikungunya (plasma et sérum) sur amplificateur CFX (extraction EZ2)
- RT-PCR dengue (plasma et sérum) sur amplificateur CFX (extraction EZ2)
- RT-PCR TBEV (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR chikungunya (plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR dengue (plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR fièvre jaune (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR Zika (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR Toscana (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)

Par ailleurs, en 2023 le laboratoire a migré vers la norme ISO 15189 version 2022.

L'audit de renouvellement et de transition vers la nouvelle version de la norme a eu lieu en mars 2024. Cet audit (rapport d'évaluation n°373822) n'a soulevé aucun écart majeur, et 3 écarts mineurs :

- 1- Non complétude du dossier de validation de méthode pour l'analyse sérologique Euroimmun, notamment sur les tests miroir sur les deux automates
- 2- Absence d'une procédure de gestion des incertitudes de mesures pour les tests ELISA
- 3- Constat d'une pipette utilisée pour la sérologie manuelle n'ayant pas été vérifiée depuis 2020

Le laboratoire est également accrédité selon la norme ISO 9001.

CNR-LA-LR

Audit cofrac ; RAPPORT D'EVALUATION N° SH-23-0264-1 v00 du 30/10/2023

Un écart non critique LC01 ; Dans 2 campagnes d'EEQ QCMD, 2019 et 2021, défaut de détection sur 2 échantillons positifs en Dengue type 2.

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. Pas de nouvelle technique accréditée en 2023.

Le dernier audit COFRAC (audit de renouvellement) a eu lieu en juillet 2023. Il a relevé 8 écarts mineurs, parmi lesquels un écart mineur applicable au CNR : Retard dans la mise à jour et la diffusion du document « liste détaillée des examens/analyses demandés à l'accréditation ». Suite à cet audit, le laboratoire a obtenu le renouvellement de son accréditation jusqu'au 30/09/2028 (attestation d'accréditation N°8-3373 rev.13).

Le prochain audit COFRAC (audit de surveillance) aura lieu en février 2025.

2. Activités d'expertise

2.1 Évolution des techniques

CNR-METRO

Au cours de l'année 2023, le CNR de métropole a totalement révisé ses méthodes de diagnostics moléculaires et sérologiques. La nouvelle approche consiste en la réalisation d'une première ligne automatisée visant les arbovirus les plus répandus (DENV, CHIKV, ZIKV, JEV, YFV, WNV, TBEV selon la zone géographique fréquentée) suivie d'une seconde ligne d'expertise.

Pour la sérologie, le laboratoire a basculé en juin 2023 sur :

- Première ligne sur automate I2P (Euroimmun)
- Deuxième ligne : sérologie ELISA manuelle (technique in house)
- Troisième ligne : séroneutralisation sur plateforme semi-automatisée

Pour la biologie moléculaire :

- Première ligne sur automate Panther Fusion (Hologic)
- Deuxième ligne : extraction sur automate EZ2 (Qiagen) et amplification sur automate CFX (Biorad)

Les secondes lignes sont réservées à la détection d'infections plus rares pour lesquelles aucun test commercialisé n'existe, ou pour le contrôle de positif sur la première ligne.

Enfin, le laboratoire s'est doté d'une capacité de séquençage génomique à haut débit et de la capacité bioinformatique associée. Le séquençage est réalisé soit sur le surnageant d'une culture cellulaire inoculée, soit directement sur le prélèvement clinique en cas de forte suspicion ou d'importance clinico-épidémiologique.

Concernant le rendu des résultats biologiques, nous avons changé l'envoi par fax pour un envoi des comptes rendus par email via le prestataire BlueFiles. Cela a permis une gestion plus moderne de cette phase, et un gain de temps pour l'équipe technique (automatisation des envois).

Pour une meilleure gestion de la collection d'échantillons biologiques, le CNR-METRO est passé en 2023 à un aliquotage en tubes codebarrés Ffluidics) pour la biobanque dans le cadre de la mise en place d'un Centre de Ressources Biologiques.

CNR-LA-IPG

En 2023, mise en place de nouvelles techniques :

- Détection d'Orthobunyavirus par RT-qPCR multiplex : OBV du séro groupe C (Oriboca / Caraparu) et OBV du groupe Guama-Capin (Guama / Bimiti)
- Séquençage complet du génome des virus Dengue 2 et Dengue 3, technologie Oxford Nanopore (NGS-MinION)

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

Nous avons aussi finalisé la technique du séquençage du virus Zika, en se basant sur le même protocole.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousses

CNR-METRO

Quatorze kits sérologiques ont fait l'objet d'une étude de concordance avec les techniques utilisées au CNR-METRO :

- VIDAS® CHIKV IgM et IgG, DENV IgM et IgG
- VIRCLIA® CHIKV IgM et IgG, DENV IgM et IgG, ZIKV IgM et IgG, WNV IgM et IgG, TBEV IgM et IgG

Ces études ont été réalisées en collaboration avec les CHU Bordeaux, CHI Toulon, CHU St Etienne, CHU Grenoble et CHU Toulouse. Le CNR a envoyé des échantillons trouvés positifs avec les tests sérologiques de routine ; ces ressources biologiques ont ensuite été testées dans les différents CHU avec d'autres kits sérologiques (VIRCLIA, VIDAS). Les CHU ont également inclus dans cette évaluation des panels d'échantillons potentiellement cross-réactifs (positifs pour d'autres pathogènes induisant potentiellement des réactions sérologiques non-spécifiques) et des échantillons attendus vrais négatifs. Au total, le CNR a partagé 26 échantillons positifs en sérologie CHIKV, 36 en sérologie DENV, 10 en sérologie ZIKV, 11 en sérologies TBEV, 13 en sérologies WNV.

Cette collaboration entre CHU et CNR a permis d'évaluer les corrélations positives et négatives entre les différentes techniques. Les résultats seront mis à disposition sur le site web CNR.

Le CNR a également commencé une évaluation autonome de l'automate VIRCLIA (avec mise à disposition de l'automate), les analyses sont en cours et les résultats seront également disponibles sur le site web CNR.

Une évaluation analytique des performances du test NS1 de l'automate VIDAS est aussi en phase de mise en place avec l'entreprise Biomerieux.

Une évaluation du TROD combiné IgM IgG et NS1 de chez AAZ (Nephrotek) a été réalisée. La sensibilité analytique a été mesurée à 1ng/100µL pour les 4 sérotypes du virus de la dengue. Les concordances globales, sur 30 échantillons, étaient de 93.3%, 83.3% et 93.3% pour respectivement la détection de l'antigène NS1, des IgM et des IgG dengue.

Concernant les kits de biologie moléculaire, la principale étude a été consacrée à un kit de détection moléculaire du virus de la dengue de la société Altona publiée dans la revue Heliyon (Broad-spectrum dengue virus detection using the commercial RealStar dengue RT-PCR kit 3.0 (Altona) and an in-house combined real-time RT-PCR assay; Luuciani L et al ; DOI:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31252>).

Comparaison des kits de PCR Dengue :

- EurobioPlex Chikungunya/Dengue RT-PCR in real time (ref: EBX-009)
- EurobioPlex Dengue 1234 RT-PCR in real time (ref: EBX-018)
- RealStar Dengue RT-PCR kit 3.0 from Altona Diagnostics (Ref: 283013)

Ces 3 kits commerciaux ont été comparés à la technique in house du CNR-LA-IPG à partir d'un panel d'isolats de Dengue représentatifs des différents sérotypes collectés entre 2001 et 2023 dans les DFA et disponibles dans la collection du CNR-LA-IPG.

Si une excellente corrélation a été observée entre les résultats obtenus avec la technique du CNR-LA-IPG et la technique Altona (9 échantillons sur 9 avec Ct comparables) un défaut de détection des kits Eurobio a été mis en évidence :

- Le kit de détection EurobioPlex (ref: EBX-009), n'a en effet permis de détecter que 3 échantillons positifs sur les 9 du panel. Avec des différences de Ct entre 11 et 16 entre le kit de détection EurobioPlex et la technique du CNR, seuls les échantillons avec les charges virales importantes (Ct <26) étaient détectés. Un 4eme échantillon présentant pourtant un Ct précoce à 21.9 avec la technique CNR, n'était détecté, quant à lui, que de façon non reproductible (Ct 38.1 / négatif).
- Le kit de typage EurobioPlex (ref: EBX-018), bien que détectant 7 échantillons positifs sur 9, présentait un défaut de détection persistant sur les échantillons de sérotype 3, justement serotype majoritaire dans l'épidémie de 2023 en Guyane : 1 seul échantillon de dengue 3 détecté sur les 3 présents dans le panel avec là encore une différence importante de Ct (21.9 pour la technique du CNR et 35.8 pour le kit EurobioPlex).

La mise en évidence de ces défauts de détection des kits EurobioPlex a fait l'objet d'un signalement par le CNR-LA-IPG aux autorités de santé et d'une déclaration de réactovigilance faite par le laboratoire du Centre Hospitalier de Cayenne auprès de l'ANSM.

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

Evaluation en cours de l'automate M10 (Eurobio) pour utilisation de la pcr multiplex avec rendu de PCR dengue pour les greffes dans sang et urines

Evaluation en cours d'autres techniques de pcr dans le contexte de correction de l'écart LC01 (cf onglet démarche qualité) : Certest Viasure, Altona real Star dengue 3.0

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

CNR-METRO

En 2023, le CNR a été sollicité par plusieurs CHU et LABM privés souhaitant mettre en place une routine de diagnostic moléculaire pour les arbovirus, ou pour apporter des changements à une routine déjà en place. Au total, plus d'une quinzaine de réunions en distanciel avec les laboratoires de grands CH ou CHU de métropole, d'outre-mer (Nouvelle Calédonie), et de laboratoires privés ont été réalisées.

La plupart des demandes a concerné les protocoles de PCR à réaliser sur Panther Fusion, qui représente depuis 2023 l'automate de routine pour les tests PCR du CNR-METRO. Chaque demande a été traitée en collaboration avec la PLD (Plateforme de l'Unité des Virus Émergents qui fournit au CNR les réactifs de biologie moléculaire lyophilisés, y compris tests PCR et témoins positifs). Les demandes ont été les suivantes :

- CHU Strasbourg : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV et WNV sur Panther.
- CHU Toulouse : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV et WNV sur Panther.
- BIOMNIS : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV sur Panther.
- CHU Clermont-Ferrand : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV et WNV sur Panther.
- CHU Limoges : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV et WNV sur Panther.
- CHU Dijon : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV et WNV sur Panther.
- CHU Angers : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV et WNV sur Panther.
- CHU Lille : Mise en place des PCR CHIKV, DENV, ZIKV sur QS12.

Pour chacun des demandeurs, la PLD a envoyé gratuitement les systèmes PCR et les témoins positifs ; le CNR a envoyé les protocoles et aidé à la mise en place des techniques : discussion de résultats attendus, résolution d'éventuels problèmes rencontrés, partage du dossier de validation de méthode, formation des techniciens etc...

Grace à cette activité de conseil et formation, plusieurs CHU ont décidé de mettre en place une activité de diagnostic moléculaire de première ligne : CHU Strasbourg, CHU Lille, CHU Limoges, avec l'achat des réactifs de la PLD utilisés au CNR et l'utilisation de protocoles du CNR. D'autres CHU (Clermont-Ferrand, Dijon, Angers) et groupes privés (BIOMNIS) sont actuellement en train de réaliser des analyses en interne pour évaluer ces réactifs et envisagent de les utiliser en routine avant le début de l'été 2024.

En ce qui concerne la sérologie, 7 CHU ont pris contact avec le CNR pour des conseils: CHU Bordeaux, CHI Toulon, CHU St Etienne, CHU Grenoble, CHU Toulouse, CHU Tours, CHT Nouméa. Chaque demande a été traitée en visioconférence de manière personnalisée.

CNR-LA-IPG

Rien à signaler en 2023

CNR-LA-LR

2.4 Collections de matériel biologique

CNR-METRO

En 2023, le laboratoire a mis en culture 396 prélèvements (Figure 4). Les prélèvements précoces (c'est à dire prélevés moins de 3 jours après la date de début des signes cliniques) ont été mis systématiquement en culture sur cellules VERO E6 et C6/36, ainsi que les prélèvements plus tardifs positifs en PCR.

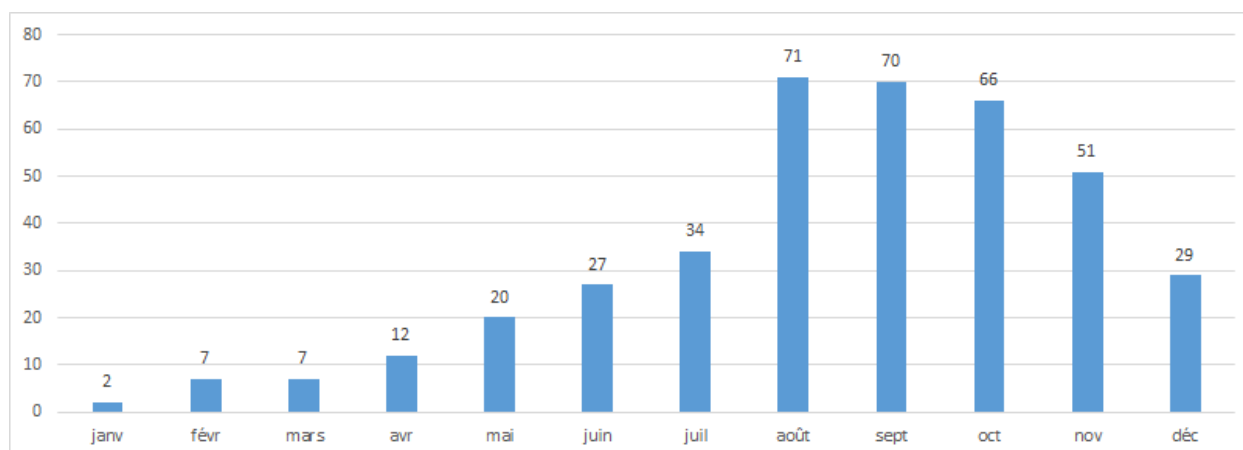


Figure 4. Nombre prélèvement mis en culture en 2023.

Ces mises en culture ont permis d'isoler 89 souches (Figure 5), essentiellement des souches de dengue. Le pays d'acquisition de ces virus est présenté dans le tableau 4. Deux souches de dengue 2 ont été isolées à partir de cas autochtones (Boulbon et Limeil-Brévannes). Une souche de virus West Nile a été isolée d'un donneur de sang en Nouvelle Aquitaine. Trois isolats de virus Usutu ont été isolés d'un même patient hospitalisé au CHU de Lille (détails en paragraphe 3.2 Surveillance). Une souche de virus Zika a été isolée à partir d'un écouvillon pharyngé d'une patiente au retour de Thaïlande. Enfin, 44 souches de dengue provenant de l'épidémie des Antilles (Guadeloupe, Martinique essentiellement) ont été isolées.

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

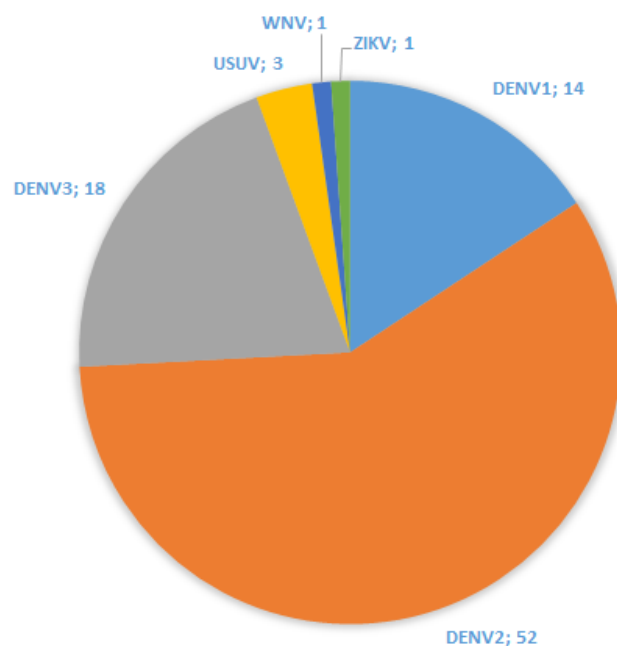


Figure 5. Souches virales isolées en 2023

Pays d'infection	DENV1	DENV2	DENV3	USUV	WNV	ZIKV	total
ARABIE SAOUDITE	1						1
BRESIL	1						1
BURKINA FASO			1				1
COSTA RICA		1					1
COTE D'IVOIRE	1						1
CUBA			1				1
ETHIOPIE			1				1
FRANCE		2		3	1		6
FRANCE (ANTILLES)		43	1				44
GUYANE FRANCAISE	1	2	6				9
HAITI			1				1
INCONNU	1						1
INDONESIE	2	2					4
KENYA			1				1
LAOS	1						1
MALI			1				1
MEXIQUE		1	3				4
SINGAPOUR	1						1
SRI LANKA	1						1
THAILANDE	3	1	2			1	7
VIETNAM	1						1
total	14	52	18	3	1	1	89

Tableau 4. Pays d'acquisition des virus isolés au CNR métropole en 2023

CNR-LA-IPG

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

En 2023, les collections du CNR-LA-IPG se sont enrichies de 4 isolats :

- 1 isolat d'Orthobunyavirus du séro groupe C : obtenu sur cellules Vero à partir d'un prélèvement de sérum provenant d'un patient hospitalisé pour un syndrome dengue-like avec défaillance hémodynamique d'évolution favorable (Date de prélèvement 01/12/2022).
- 3 isolats de virus Dengue 3 : obtenus sur cellules Vero à partir d'échantillons provenant de laboratoires de Biologie médicale de Kourou et de l'Ile de Cayenne prélevés entre le 23/11/2022 et le 10/03/2023.

Malgré notre souhait de renforcer les tentatives d'isolement viral par une mise en culture plus systématique des prélèvements précoces, cela n'a toujours pas été possible en 2023 du fait de la surcharge de travail liée à la période épidémique et d'un contexte RH compliqué avec départ de techniciens et difficultés de recrutement.

CNR-LA-LR

En 2023, notre collection s'est enrichie de : 5 isolats de DENV2 et de 1 DENV4 de 2023 et de 7 isolats de DENV1 de 2019 de Mayotte.

2.5 Activités d'expertises

CNR-METRO

1. Résultats quantitatifs

En 2023, le CNR métropole a reçu 7639 échantillons biologiques (Figures 6 et 7). Cette importante augmentation par rapport aux années précédentes s'explique par :

- la diversité plus importante de prélèvements que nous avons demandée à l'issue de la publication de notre nouvelle feuille de renseignement (version 9, diffusée en avril) : ajout des matrices urine, écouvillon pharyngé et sang total
- une saison 2023 importante en nombre de cas autochtones de dengue et de West Nile, avec des activités de surveillance générant de nombreux prélèvements (EFS, qualification de donneurs de tissus, cellules, organes et surveillance génomique de la dengue dans les Antilles).

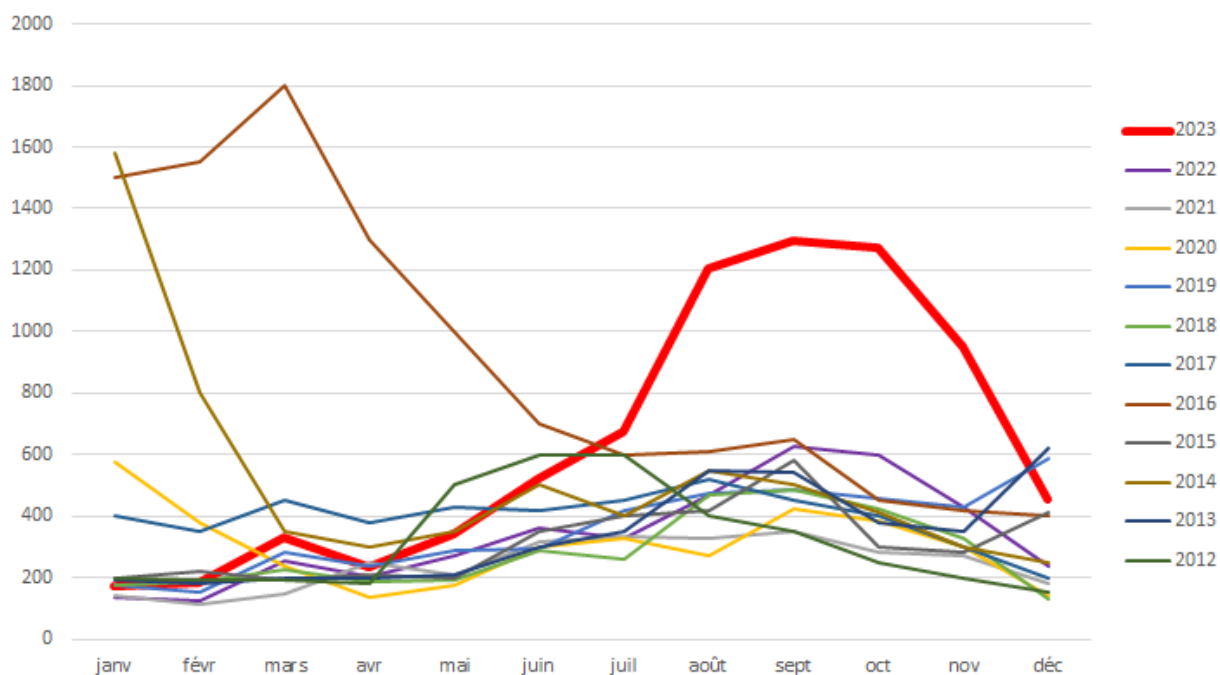


Figure 6. Nombre de prélèvements reçus par mois.

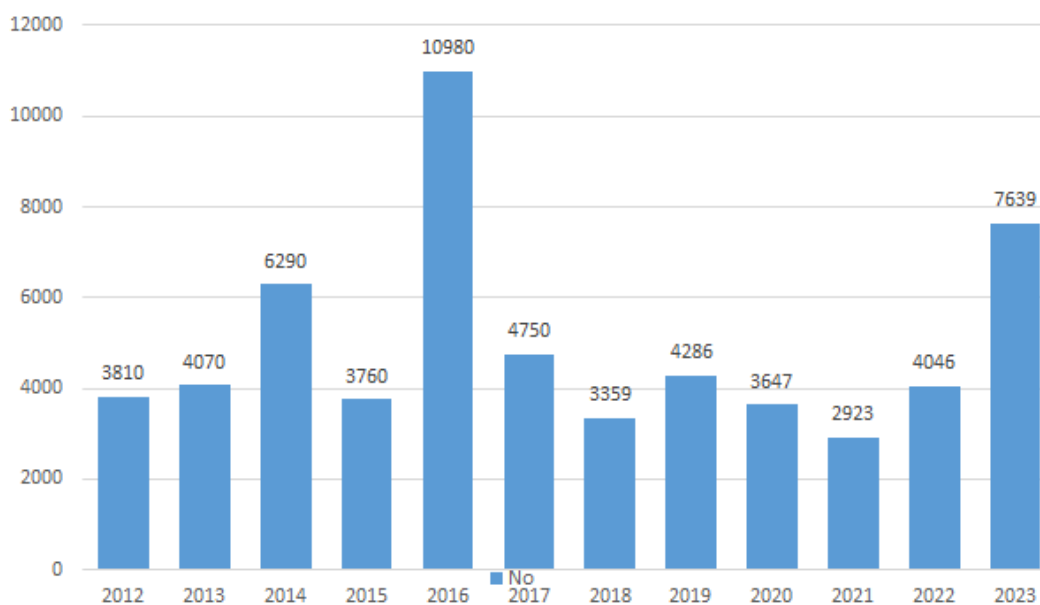


Figure 7. Nombre total de prélèvements reçus au CNR métropole en 2023, en comparaison avec les années précédentes.

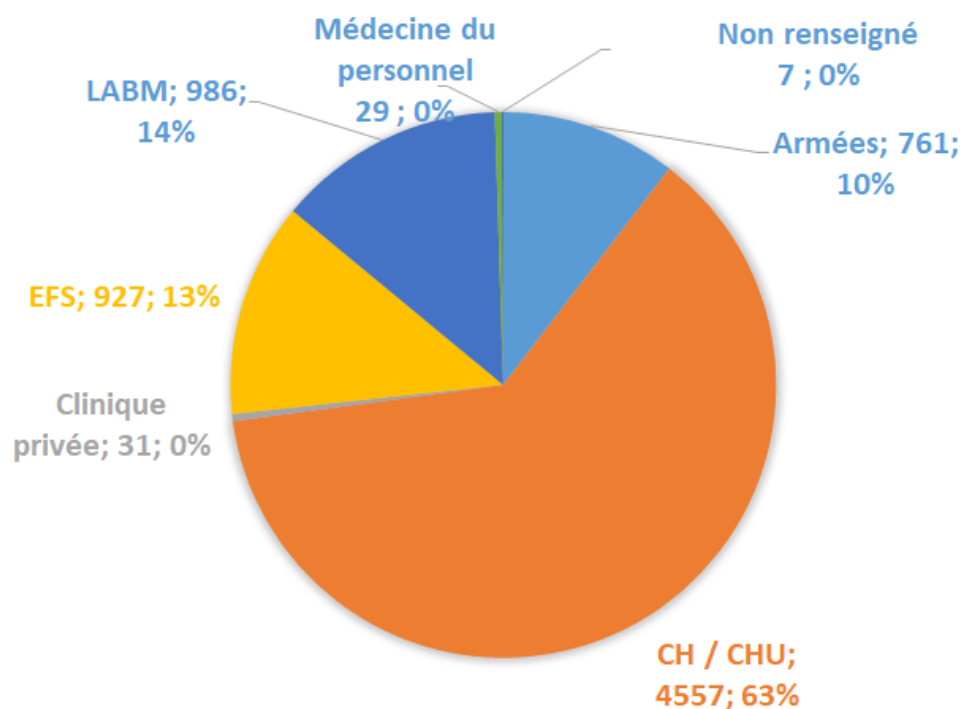


Figure 8. Nombre de prélèvements reçus en fonction de leur provenance. CH = Centre Hospitalier ; CHU = Centre Hospitalier Universitaire ; LABM = Laboratoire de Biologie Médicale ; EFS = établissement Français du sang

L'origine des prélèvements (figure 8), comme l'année précédente est représentée majoritairement par les CHU, CH et LABM. Cette année, la part des prélèvements analysés au profit de l'EFS a augmenté (n=580 prélèvements en 2022 versus n=927 en 2023).

Les prélèvements reçus étaient principalement du sérum et du sang total (Figure 9). Le sang total était aliquoté en un tube de sang total et le reste était centrifugé pour récupérer le plasma, générant deux matrices complémentaires.

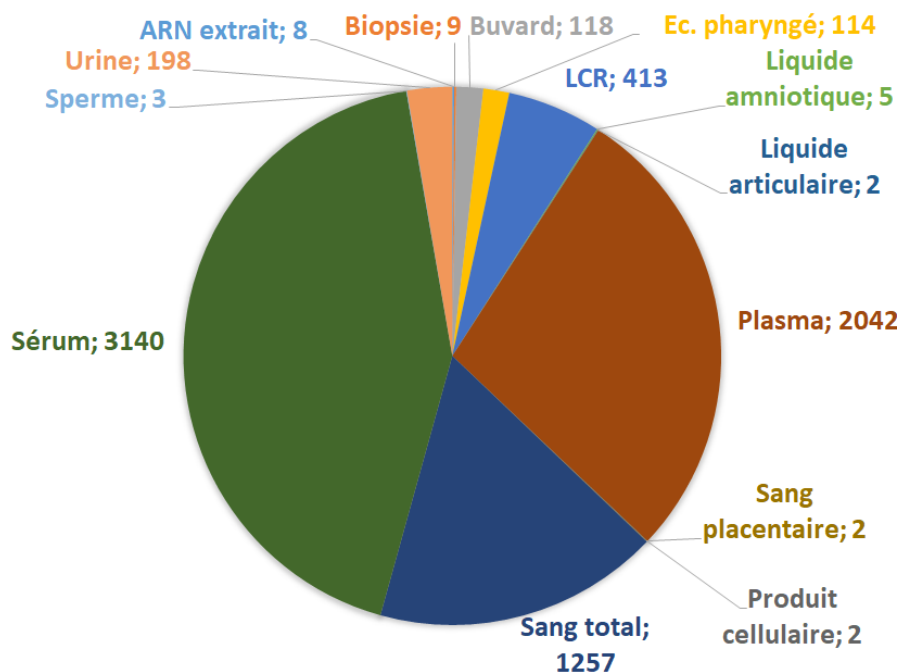


Figure 9. Nature des prélèvements reçus.

2. Résultats qualitatifs : diagnostic direct

Le diagnostic direct est réalisé par RT-PCR et par détection de l'antigène circulant NS1 du virus de la dengue. En 2023, un test PCR était effectué pour tous les prélèvements réalisés dans les 12 jours suivant la date de début des symptômes. La méthode de première ligne était la PCR 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 était recherché en cas de syndrome fébrile avec arthralgies et/ou myalgies, et si la quantité de prélèvement était suffisante.

Au total, 17534 tests diagnostic direct ont été réalisés, pour 1001 tests retrouvés positif (Tableau 5).

Virus	Automate Panther		Extraction manuelle, amplification CFX		Extraction automate EZ2, amplification CFX		Antigène circulant NS1 dengue		Total		
	No test	No Positifs	No test	No Positifs	No test	No Positifs	No test	No Positifs	No test	No Positifs	% Positifs
CHIKV	916	1	982	2	103	1	—	—	2001	4	0,2
DENV	1487	389	1086	103	166	72	491	59	3230	623	19,3
DENV1	266	7	255	22	16	1	—	—	537	30	5,6
DENV2	264	74	261	95	19	2	—	—	544	171	31,4
DENV3	266	19	259	56	16	2	—	—	541	77	14,2
DENV4	265	1	251	1	16	1	—	—	532	3	0,6
EEEV	0	0	0	0	2	0	—	—	2	0	0,0
EV	60	2	0	0	1	0	—	—	61	2	3,3
JEV	130	1	74	0	16	1	—	—	220	2	0,9
MAYV	0	0	39	0	16	0	—	—	55	0	0,0
MUVV	0	0	0	0	1	0	—	—	1	0	0,0
OROV	0	0	0	0	15	0	—	—	15	0	0,0
RRV	0	0	0	0	3	0	—	—	3	0	0,0
RVFV	0	0	176	0	4	0	—	—	180	0	0,0
SINV	57	0	0	0	38	0	—	—	95	0	0,0
SLEV	0	0	0	0	4	0	—	—	4	0	0,0
TBEV	1701	0	639	0	63	0	—	—	2403	0	0,0
TONV	0	0	0	0	4	0	—	—	4	0	0,0
TOSV	264	0	106	2	21	0	—	—	391	2	0,5
USUV	208	22	12	0	13	0	—	—	233	22	9,4
VEEV	0	0	0	0	2	0	—	—	2	0	0,0
WEEV	0	0	0	0	2	0	—	—	2	0	0,0
WNV	2527	21	1053	13	112	2	—	—	3692	36	1,0
YFV*	368	0	216	2	69	0	—	—	653	2	0,3
ZIKV	986	7	1037	0	110	1	—	—	2133	8	0,4

Tableau 5. Nombre total d'analyses réalisées et nombre de positifs par diagnostic direct, par virus et par méthode, en 2023. * PCR fièvre jaune positives dans un contexte post-vaccination

3. Résultats qualitatifs : diagnostic indirect

Le diagnostic indirect est réalisé avec deux méthodes : les méthodes sérologiques ELISA, et les méthodes de séroneutralisation. En 2023, nous avons utilisés deux techniques ELISA : les kits commerciaux associés à l'automate Euroimmun en première ligne à partir du mois de juin, et l'ELISA « in house » du CNR en complément.

Au total, nous avons réalisé 17418 sérologies IgM (ou IgAM pour le virus Zika), 13710 sérologies IgG, et 451 séroneutralisations. Comparé à l'année précédente, cela représente un nombre stable de sérologies mais une augmentation de +299 séroneutralisations.

Virus	ELISA manuel (CNR)			ELISA Euroimmun			Séroneutralisation	
	No tests IgM	No tests IgG	No Positifs *	No tests IgM/AM	No tests IgG	No Positifs *	No tests	No Positifs**
CHIKV	1300	1299	5	1434	643	20	35	12
DENV	1328	1328	38	1603	806	108	—	—
DENV1	—	—	—	—	—	—	55	26
DENV2	—	—	—	—	—	—	60	34
DENV3	—	—	—	—	—	—	55	29
DENV4	—	—	—	—	—	—	36	19
JEV	111	110	3	137	58	9	6	4
MAYV	49	49	0	0	0	0	3	1
ONNV	10	10	0	0	0	0	4	1
RRV	4	4	0	0	0	0	0	0
RVFV	55	55	0	0	0	0	0	0
SFNV	1	1	0	0	0	0	0	0
SFSV	1	1	0	0	0	0	0	0
SINV	107	100	0	0	0	0	0	0
SLEV	16	16	0	0	0	0	0	0
TBEV	1062	1062	5	1988	1622	31	9	6
TONV	1	1	0	0	0	0	0	0
TOSV	622	617	1	0	0	0	1	0
USUV	10	10	0	0	0	0	77	48
VEEV	6	6	0	0	0	0	0	0
WNV	1738	1647	30	2800	2035	68	102	48
WSL	1	1	0	0	0	0	0	0
YFV	470	466	8	0	0	0	5	4
ZIKV	118	118	1	2446	1645	15	3	2
<i>total</i>	7010	6901	91	10408	6809	251	451	234

Tableau 6. Nombre total d'analyses réalisées et nombre de positifs par diagnostic indirect, par virus et par méthode, en 2023. * sérologies positives en IgM et IgG ; ** présence d'un titre neutralisant $\geq 1:20$; Note : les chiffres des colonnes « positifs » correspondent à une signal positif sur le test pratiqué mais pas à l'interprétation finale, cette dernière se faisant dans le cadre d'un ensemble cohérent d'éléments (critères clinico-épidémiologiques, confirmation du test, réactions sérologiques croisées ...)

4. Apport des nouvelles matrices dans la stratégie diagnostique

En 2023, nous avons modifié notre fiche de renseignement au regard des évolutions technologiques réalisées. Cela été l'occasion notamment de demander (i) plus de volume d'échantillon, indispensable pour la confirmation et l'expertise des cas complexes ainsi que pour l'automatisation ; (ii) du sang total, une urine et un écouvillon pharyngé en plus du sérum usuellement demandé. L'utilisation de ces matrices pour le diagnostic moléculaire d'arbovirose offre plusieurs avantages par rapport aux seuls échantillons sanguins : des charges virales parfois plus élevées et souvent une fenêtre de détection élargie. Cela a été amplement décrit pour ZIKV, DENV et WNV. D'autres arbovirus sont sporadiquement détectés dans l'urine et/ou la salive, à savoir CHIKV, TBEV, USUV, YFV, JEV, TOSV, RVFV, CCHFV et OROV.

Au total 90 échantillons de sang total ont été testés pour les virus de la dengue et/ou Zika en PCR. Quatre sont ressortis positifs, tous étaient également positif en PCR sur le sérum ou le plasma associé (Tableau 7). La charge virale était plus faible dans le sang total.

N°	Sang total		Sérum ou plasma concomitant		Différence de Ct
	Virus	Ct		Ct	
1	DENV	27		23	4
2	DENV	25		23	2
3	DENV	34		33	1
4	DENV	40		38	2

Tableau 7.

Au total de 139 échantillons d'urines ont été testés pour les virus de la dengue et/ou Zika et/encéphalite japonaise en PCR. Sept sont revenus positifs, tous étaient également positifs sur le sérum ou le plasma concomitant (Tableau 8). Pour DENV la charge virale retrouvée était généralement plus forte sur le sérum que sur l'urine, à l'exception de trois cas dont deux en particulier (N°8 et 9) pour lesquels la PCR plasmatique était négative. Nous avons pu diagnostiquer un cas d'encéphalite japonaise pour lequel la PCR plasmatique était également négative. Pour le virus Zika, sur les quatre cas positifs dans les urines, nous n'avions le sérum concomitant que pour l'un d'entre eux, la charge virale étant comparable. Les 3 autres cas provenaient d'une famille ayant contracté le virus Zika au retour de Thaïlande, pour laquelle les investigations ont été réalisées par le laboratoire Cerba.

N°	Urine		Sérum, plasma ou LCR concomitant		delta Ct
	Virus	Ct		Ct	
1	DENV	34		37	-3
2	ZIKV	31		? *	?
3	ZIKV	37		? *	?
4	ZIKV	38		? *	?
5	DENV	39		34	5
6	ZIKV	32		32	0
7	DENV	36		32	4
8	DENV	30		négatif	NA
9	DENV	34		négatif	NA
10	JEV	38		négatif	NA

Tableau 8.

Concernant les écouvillons pharyngés, nous avons testé 7 échantillons en dengue et/ou Zika en PCR (Tableau 9). Trois sont revenus positifs (n=2 DENV et n=1 ZIKV). Les charges virales étaient plus forte dans le sang périphérique pour DENV, et en revanche quoique sur un seul échantillon, beaucoup plus forte sur l'écouvillon pharyngé pour ZIKV.

N°	Ecouvillon pharyngé		Sérum ou plasma concomitant		delta Ct
	Virus	Ct		Ct	
1	DENV	39		37	2
2	ZIKV	27		32	-5
3	DENV	37		27	10

Tableau 9.

Cette étude préliminaire est limitée par le faible nombres d'échantillons testés et par le fait que ces matrices n'étaient pas systématiquement traitées lorsque la PCR était positive dans le sérum ou le plasma. En 2024, nous testerons plus largement ces matrices quel que soit le résultat sur le sang périphérique.

Une souche de DENV a été isolée à partir d'un échantillon d'urine, ainsi qu'une souche de ZIKV et 2 souches de DENV à partir d'écouvillons nasopharyngés. Une souche de WNV et 2 souches de DENV ont été isolées à partir de sang total.

5. Activité de qualification des greffes

En 2023, nous avons réalisé 3875 tests diagnostiques dans le cadre de la qualification de donneur d'organes solides ou de cellules. Cette activité a constitué 10% de l'activité de sérologie et 20% de l'activité de PCR (Tableau 10).

	Tout virus	TBEV et WNV	% de l'activité
Sérologies			
Euroimmun (IgM et IgG)	1839	1709	10,7
ELISA maison (IgM et IgG)	95	75	0,7
RT-PCR			
Panther	1921	1687	19,7
CFX	14	7	0,2
Séroneutralisation			
Séroneutralisation	6	3	1,3
total	3875	3481	32,6

Tableau 10. Nombre d'analyse réalisés en 2023 dans le cadre de la qualification de donneurs d'organes ou de cellules.

6. Activité au profit de l'EFS

L'activité au profit de l'EFS était représentée par : des contrôles par PCR suite à un test de détection du génome viral positif à l'EFS, des qualifications dans le cadre de don de tissus, de contrôles rétrospectifs dans des régions ou des cas autochtones ont été diagnostiqués, ou encore de tests « coup de sonde ». Au total, 2265 tests ont été réalisés dans ce cadre, représentant 24% de notre activité en 2023.

	No de tests	% de l'activité
Sérologies		
Euroimmun (IgM et IgG)	380	2,2
ELISA maison (IgM et IgG)	35	0,3
RT-PCR		
Panther	1813	16,4
CFX	12	0,2
Séroneutralisation		
Séroneutralisation	25	5,5
total	2265	24,5

Tableau 11. Nombre de tests réalisés au profit de l'EFS.

Le nombre de prélèvements reçus en 2023 par le CNR-LA-IPG reçus pour diagnostic et expertise au CNR-LA-IPG a été de **6486**, en hausse par rapport aux années précédentes non épidémiques, cohérent avec le nombre de prélèvements précédemment reçus en période d'épidémie de dengue, tout en restant inférieur au nombre de prélèvements reçus à l'occasion des émergences des virus Chikungunya et Zika (Figure 10A). L'augmentation du nombre de prélèvements à partir du mois de juin coïncide avec le démarrage d'une circulation soutenue de dengue (Figure 9B). Le bilan des prélèvements reçus en fonction de leur provenance et des analyses réalisées est présenté dans le tableau ci-dessous.

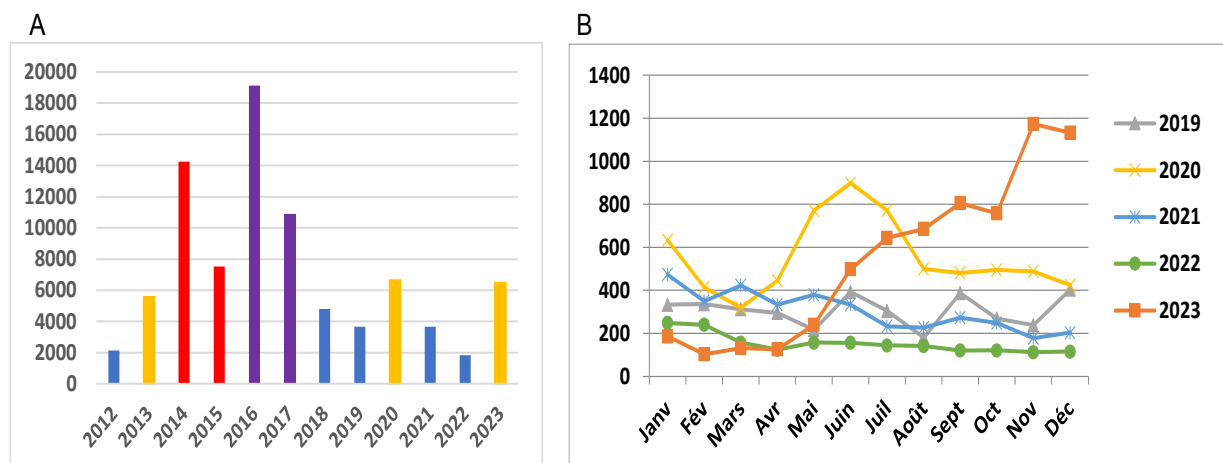


Figure 10 (A, B) : Evolution du nombre annuel de prélèvements reçus au CNR-LA-IPG. (A) Nombre de prélèvements reçus par année d'exercice de 2012 à 2023 (en bleu : années inter-épidémiques, en jaune : années d'épidémies de virus Dengue, en rouge et violet : périodes d'émergences des virus Chikungunya et Zika). (B) Nombre de prélèvements reçus par mois sur les 5 dernières années

Provenance	Total plvts reçus en 2023	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 OBV
Guyane	5942	1020	5366	46	5228	29046	2035	8
Centres de santé	137	52	262	2 IgA Den + IgA Zika	101	690	56	
CH Cayenne	1360	691	4004	3 IgA Den + IgA Zika 3 IgM WN + IgM ESL 7 sero Oriboca 4 sero Oropouche	895	6163	255	1
CH Saint Laurent	634	209	712	3 IgA Den + IgA Zika	468	1959	366	
Labo Kourou	2158	17	105	1 sero Oriboca	2142	10988	856	4
Labo Saint Laurent	157	5	25		155	743	61	
Labos Ile de Cayenne	1496	46	258	1 IgA Den + IgA Zika 2 IgM WN + IgM ESL 2 sero Oriboca 1 sero Oropouche	1467	8503	441	3
Martinique	87	14	109	2	87	351	73	
Labos ville				1 IgA Den + IgA Zika				
Guadeloupe	331				331	1324	309	
Labos ville								
Saint Barth	55				55	220	41	
Labos ville								
Saint Martin	71				71	284	34	
Labos ville								
Total général	6486	1034	5475	48	5772	31225	2492	8

Tableau 12 : Prélèvements reçus en 2023 en fonction de leur provenance avec bilan des analyses réalisées. *Ag

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

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

En 2023, le délai moyen de rendu de résultat du CNR-LA-IPG par rapport à la date de réception au laboratoire a été de 0.95 jours pour les PCR Dengue, 2.3 jours pour les PCR Chik et Zika et de 3.2 jours pour les sérologies. Les délais plus longs pour les sérologies s'expliquent par des techniques réalisées sur 2 jours (avec une incubation sur la nuit).

CNR-LA-LR

	2022*		2023	
	n	%	n	%
N total analyses	8214		5972	
DENGUE				
Sérologies	1938		1364	
IgM+ isolés	60	3,10	39	2,86
IgG+ isolés	560	28,90	372	27,27
IgM+ IgG+	86	4,44	60	4,4
RT PCR	2869		2235	
Positif	65	2,27	12	0,54
Typage	422		63	
D1 Positif	405	95,97	3	4,76
D2 Positif	2	0,47	37	58,73
D3 Positif	0	0	0	0
D4 Positif	0	0	1	1,59
CHIKUNGUNYA				
Sérologies	469		400	
IgM+ isolés	17	3,62	10	2,5
IgG+ isolés	144	30,70	109	27,25
IgM+ IgG+	22	4,69	5	1,25
RT PCR	2516		1909	
Positif	0	0	0	0
ZIKA				
Sérologies	0		0	
IgG positifs	0	0	0	0
RT PCR	0		1	
Positif	0	0	0	0

*les données de 2022 ont été recalculées de la même façon que celles de 2023.

Tableau 13 : Bilan général de l'activité du CNR LR en 2023

	Dengue						Chikungunya			
	Sérologies		RTPCR		Typage		Sérologies		RTPCR	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
CHU Réunion	1158	84,90	1906	85,28	11	17,46	334	83,50	1701	89,10
CH Mayotte	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
CHOR	203	14,88	319	14,27	2	3,17	24	6,00	185	9,69
LABM	3	0,22	10	0,45	50	79,37	42	10,50	23	1,20
Total	1364	100	2235	100	63	100	400	100	1909	100

Tableau 14: Origine des prélèvements reçus au CNR arbovirus associé LR.

A noter, nous avons réalisé :

90 PCR dengue (sang + urines) dans la cadre de la qualification de don d'organes

65 PCR dengue (sang) dans la cadre de la qualification de receveurs d'organes (rein, coeur)

2.6 Activités de séquençage

CNR-METRO

En 2023, le CNR de métropole a produit **393** 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-séquencage 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 **294** séquences d'arbovirus dont 170 séquences complètes (95 % du génome couvert) et 56 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). Dans le cadre du suivi des épidémies de dengue aux Antilles et en Guyane en 2023, **210 séquences** virales ont été réalisées. Ce suivi a été formalisé sous forme de rapports transmis à Santé Publique France toutes les deux semaines entre juillet et décembre 2023 ainsi que sous la forme d'une publication dans le journal Eurosurveillance (doi : [10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123)). Les détails des résultats de ce suivi sont exposés en section 7.1.

En plus du suivi génomique de routine, le CNR a également réalisé le séquençage rétrospectif de **99** séquences de souches isolées entre 2013 et 2022 correspondant aux quatre sérotypes du virus de la dengue.

La majorité des virus séquencés dans le cadre de la routine appartient au sérotype 2 du virus de la dengue (214 séquences sur 294) avec également plusieurs dizaines de séquences pour les sérotypes 1 et 3 et des séquences pour d'autres espèces d'arbovirus dont WNV, ZIKV, CHIKV, USUV et TOSV (Figure 11, panel de gauche). En termes de diversité génétique, plusieurs génotypes circulants ont été identifiés pour la dengue 1 (I, III et V) et la dengue 2 (Cosmopolitan, Asian-American). Un seul génotype a été recensé pour les autres virus notamment le génotype III pour la dengue 3, le lignage 2 pour WNV, le génotype Africa 3 pour USUV, le génotype Asian pour ZIKV (Figure 11, panel de droite).

Parmi les séquences produites, la plupart sont associées à des infections contractées aux Antilles (199) et en Guyane (15) - 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 Thaïlande, le Mexique, et l'Indonésie.

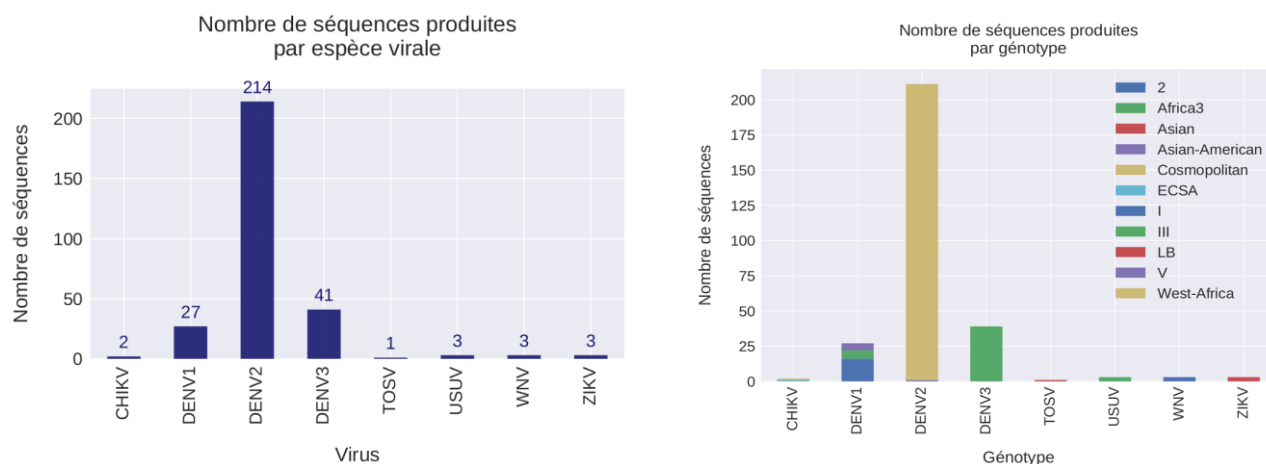


Figure 11. Nombre de séquences produites en routine en 2023 au CNR - METRO en fonction de l'espèce virale et du génotype

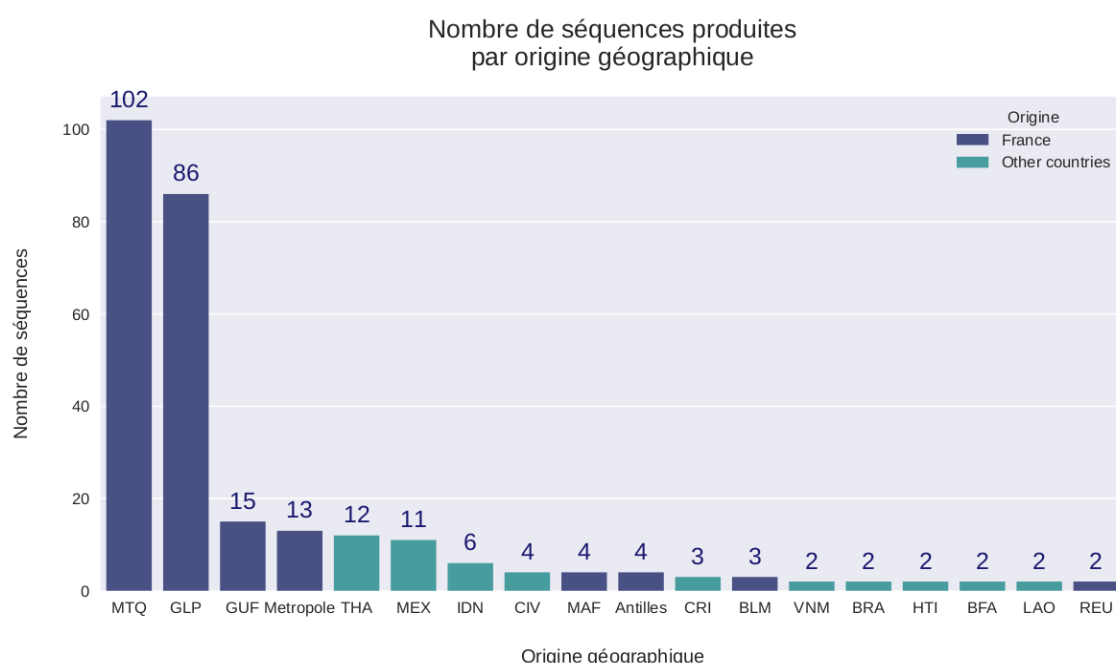


Figure 12. Nombre de séquences produites au CNR-METRO en routine en 2023 en fonction de l'origine géographique. Seules les 18 localisations les plus fortement représentées sont visibles sur le graphique. Le nom de chaque localisation est donné sous forme d'ISO code.

Par ailleurs l'Unité des Virus Emergent dont l'équipe du CNR-METRO a initié le projet Arbogen (porté par l'ANRS MIE et la Fondation MSD Avenir) visant le séquençage de 1500 génomes de dengue dans les territoires ultra-marins à des fins de caractérisation de la pathogénie, des mutations impactant les méthodes diagnostiques, la résistance aux nouvelles thérapeutiques et l'échappement à l'immunité induite par les vaccins. Ce projet sera l'occasion de mettre en place le premier réseau français trans-territorial de partage de données de séquences d'arbovirus qui constituera une excellente ressource et au-delà de ce projet, servira de base pour la préparation à l'émergence virale.

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	Le CNR métropole a accès à la plateforme de séquençage interne de L'Unité des Virus Emergents.
	Les technologies / matériels utilisés ont été respectivement : séquenceur Ion Torrent (S5) —

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

☐ **NON** Si NON ou accès limité, précisez les raisons

☒ **OUI**

Le CNR métropole a accès en interne à une expertise bioinformatique

Outils utilisés pour l'analyse des séquences :

- 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 ?

☐ **NON** Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?

☒ **OUI**

Les activités de séquençage menées en 2023 ont permis de réaliser un suivi génomique des foyers de circulation autochtone du virus de la dengue afin d'identifier/confirmer les liens entre cas ainsi que l'origine de la circulation virale. Au total, 7 séquences associées à 6 foyers de circulation différents ont été produites.

Aussi, la surveillance de mutations de résistance à un antiviral contre la dengue en cours de développement (mosnodenvir) a permis de mettre en évidence que le lignage de virus de la dengue 2 associé à l'épidémie des Antilles en cours depuis 2023 est résistant à cette molécule in vitro. Cet étude est détaillée en section 3.3.

Finalement, grâce au séquençage haut-débit, dans un cadre de recherche opérationnelle sur les excréta de moustique en Nouvelle Aquitaine, le CNR métropole a pu réaliser un suivi génomique de la circulation des virus WNV et USUV en France en 2023 avec respectivement 17 et 6 séquences de WNV et USUV produites, analysées et déposées sur Genbank en plus de l'activité de routine (doi:10.1101/2024.04.10.588707).

NB : Ces séquences ne sont pas comptabilisées dans le résumé en section 2.6 car réalisées hors du cadre de la routine

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)

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 :

Dans le cadre du suivi des épidémies de dengue aux Antilles et en Guyane en 2023, **210 séquences** ont été réalisées. Ce suivi a été formalisé sous forme de rapports transmis à Santé Publique France toutes les deux semaines entre juillet et décembre 2023 ainsi que sous la forme d'une publication dans le journal Eurosurveillance (doi : [10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123)). Elle est détaillée en section 7.1.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

- Outre le séquençage réalisé dans le cadre du suivi des épidémies de dengue aux Antilles et en Guyane en 2023, 84 séquences ont été générées dans le cadre de la surveillance génomique réalisée par le CNR-METRO. Ces séquences correspondent aux sérotypes 1, 2, et 3 de la dengue, ainsi qu'aux espèces WNV, ZIKV, USUV, CHIKV et TOSV.
- En plus du séquençage de routine, un séquençage rétrospectif des souches échantillonnées sur les années précédentes a été entamé, avec 99 séquences du virus de la dengue, comprenant les quatre sérotypes. Ce séquençage rétrospectif permet notamment d'approfondir le contexte génomique pour des localisations peu représentées sur les bases de données publiques

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

Dans les bases de données fermées : NA

Dans des bases de données publiques : Toutes les séquences complètes produites par le CNR-METRO vont être déposées sur la base de données publique Genbank.

CNR-LA-IPG

En 2023, le CNR-LA-IPG a généré 101 séquences complètes (98 séquences de dengue et 3 séquences d'OBV). Des séquences partielles ont également été obtenues.

Toutes ces séquences vont être déposées dans la base de données GenBank.

- Activités de séquençage Dengue :

Les techniques de séquençage NGS sur MinION des virus DEN 2 et DEN3 ont été développées puis appliquées, en vue de la caractérisation phylogénétique des virus Dengue 2 et Dengue 3 circulants dans les départements français des Amériques (DFA).

Le séquençage complet de **35 virus Dengue 2** et de **63 virus Dengue 3** détectés dans les DFA respectivement **entre 2007 et 2023 pour les DEN2 et entre 2001 et 2023 pour les DEN3** a ainsi été réalisé.

Des séquences partielles sont également disponibles pour 3 virus Dengue 2 et 4 virus Dengue 3 supplémentaires.

- Activité de séquençage Orthobunyavirus :

- Le séquençage complet de **3 OBV** détectés en 2022 a pu être obtenu en 2023, mettant en évidence des virus distincts (réassortants) :

- leurs segments S présentent un profil Oriboca / *Orthobunyavirus oribocaense* (cf ICTV2022)
- leurs segments L présentent un profil Restan / *Orthobunyavirus oribocaense*
- leur segment M, présente pour 2 d'entre eux un profil Oriboca / *Orthobunyavirus oribocaense* et pour que le 3eme un profil Restan / *Orthobunyavirus maritubaense*

- Par ailleurs, sur les 9 OBV détectés en 2023, 4 ont été séquencés sur le segment S : ces virus, comme les 8 OBV séquencés en 2022, sont tous apparentés au virus Oriboca / *Orthobunyavirus oribocaense*.

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

☐ NON

Si NON ou accès limité, précisez les raisons

☒ OUI

Le CNR-LA IPG a eu accès à 2 plateformes de séquençage : plateforme interne CNR-LA-IPG et plateforme externe : Société AZENTA (Allemagne).

Les technologies / matériels utilisés ont été respectivement :

pour le plateforme interne : séquenceur Minion, technologie Oxford Nanopore

pour la société AZENTA : technologie Sanger.

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

☐ **NON** Si NON ou accès limité, précisez les raisons

☒ **OUI** Le CNR-LA IPG a accès en interne à une expertise bioinformatique

Outils utilisés pour l'analyse des séquences :
 - outil commercial : CLC Workbench 22.0.2
 - outil open source : ARTIC, nanopolish, Guppyplex, minimap2, BLAST, SPADES, VELVET, etc..
 - et outils 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 ?

☐ **NON** Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?

☒ **OUI** Les activités de séquençage menées en 2023 visaient à investiguer des arbovirus détectés dans le cadre de la surveillance avec notamment la poursuite des investigations autour des souches d'Orthobunyavirus détectés en 2022 et 2023

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 2022 - 2023 : 15 génomes complets DEN2 et 45 génomes complets DEN3 ont été séquencés

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Au total, en 2023 :

- Pour les virus Dengue 2 et Dengue 3, correspondant aux sérotypes majoritaires circulants actuellement dans les DFA, un échantillonnage a été réalisé parmi les isolats ou surtout les prélèvements primaires avec Ct inférieur à 28 disponibles au laboratoire de façon à avoir une représentation de leur diversité dans le temps mais aussi dans les différents territoires (souches provenant de Guyane, Martinique, et Guadeloupe pour chacun des sérotypes). Au total le séquençage complet de **35 virus Dengue 2 et de 63 virus Dengue 3 détectés dans les DFA respectivement entre 2007 et 2023 pour les DEN2 et entre 2001 et 2023 pour les DEN3 a été réalisé.**
- 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 2023, **le séquençage complet de 3 premiers OBV a pu être obtenu ainsi que le séquençage des segments S de 3 nouveaux OBV détectés en 2023.**

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 :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : NA

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

Le CNR LR réalise le séquençage du virus de la Dengue et du Chikungunya en utilisant la technologie d'Oxford Nanopore.

En 2023, le CNR LR a réalisé le séquençage de 42 séquences du virus de la Dengue :

- 39 séquences de DENV2 génotype II Cosmopolitain
- 1 séquence de DENV1 génotype I d'une réinfection probable
- 1 séquence de DENV3 génotype III probablement importé de Thaïlande/Cambodge
- 1 séquence de DENV4 génotype I probablement importé des Seychelles

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 pour la Réunion et Mayotte. Cette plateforme est en cours de mutualisation avec l'ensemble des besoins des laboratoires.</p> <p>Technologie/matériel de la (des) plateforme(s) de séquençage auquel le CNR a accès</p> <p>CNR-LR :La technologie utilisée par cette plateforme de séquençage est la technologie d'Oxford Nanopore. Des robots pipetteurs et des extracteurs permettent de normaliser les concentrations de nucléotides et de préparer les bibliothèques. Un protocole maison permettant le séquençage multiplexe par amplicon de 1200 bases du génome viral complet des virus de la Dengue et du Chikungunya, basé sur la méthode de séquençage du réseau Artic pour le séquençage de virus à ARN, a été mise au point par le CNR LR. Les bibliothèques sont préparées avec le kit Rapid Barcoding d'Oxford Nanopore et séquencées sur les séquenceurs MinION.</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 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 (Fast5 et Fastq) est réalisé en utilisant les outils bio-informatiques d'Oxford Nanopore (Guppy, Epi2me Labs, Epi2me) et le pipeline open source field bioinformatics du consortium Artic (https://github.com/artic-network/fieldbioinformatics). Les séquences sont ensuite analysées dans l'outil Geneious Prime en réalisant des alignements multiples (MAFFT) et des arbres phylogénétiques (iQTree). Le génotypage et l'analyse des séquences d'arbovirus peuvent aussi être réalisés en utilisant les outils en ligne de la NCBI (Blast) et l'outil Genome Detective (genomedetective.com).</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	<p>Si OUI, précisez pour quelles activités. Indiquez s'il s'agit d'investigations d'épidémies ou d'investigations intervenues dans le cadre de la surveillance.</p> <p>Le CNR LR fait appel au séquençage depuis 2023 pour l'investigation d'épidémies et dans le cadre de la surveillance en collaboration avec SPF Réunion.</p>

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

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

CNR-LR : Les séquençages et les analyses bio-informatiques sont réalisés en complément des RTPCR de détection et de serotypage. Les analyses bio-informatiques et phylogénétiques conduites permettent de déterminer le génotype des virus et de comparer les séquences détectées aux séquences ayant déjà circulé sur l'île et dans la zone Océan-Indien et aux séquences présentes dans les bases de données 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 2023, le CNR LR a réalisé le séquençage de : 42 séquences du virus de la Dengue.

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

CNR-LR :

En 2023 , période non épidémique, pour le moment, 42 souches ont été séquencées.

Concernant la collection historique qui comprenait plus de 4 000 échantillons, une sélection de 796 souches et prélèvements à séquençer a été réalisée en collaboration avec SPF Réunion.

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

Dans les bases de données fermées : Précisez

Les séquences des génomes brutes et assemblées sont actuellement conservées dans la base de données du CNR LR. L'archivage des données est ensuite réalisé sur un 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 du virus de la Dengue du CNR LR ont été déposées dans la base de données publique NCBI Genbank, en accès confidentiel dans l'attente de la publication de nos résultats dans un journal scientifique. Elles seront rendues publiques dès l'acceptation de la publication.

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

CNR-METRO

Toutes les séquences complètes et quasi-complètes produites par le CNR-METRO vont être déposées sur la base de données publique GenBank. Dans certains cas particulièrement intéressants, une séquence partielle pourra être déposée. Un dépôt sur NCBI des données brutes est également prévu. A ce jour, un total de 115 séquences a été déposé sur GenBank. A partir de l'automne 2024, les données de séquence des laboratoires du CNR (Metro et LA) pourront être partagées sur la bases de données et d'analyse Arbogen mise en place par le CNR.

CNR-LA-IPG

Les séquences complètes (virus Dengue) ont été partagées au sein du CNR arbovirus, et sont en cours de dépôt sur NCBI (GenBank).

CNR-LA-LR

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

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

3. Activités de surveillance

L'année 2023 a été une année record pour la Dengue avec plus de 5 millions de cas rapportés au niveau mondial, dont plus de 4 millions dans les Amériques (source WHO). Dans les Départements Français des Amériques (DFA), après une année 2022 très calme en dehors de l'apparition de foyers épidémiques de Dengue en Guadeloupe en fin d'année, l'année 2023 a vu le redémarrage d'épidémies de Dengue dans tous les territoires.

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

Par contre, en Guyane, comme en 2022, des cas d'infection par Orthobunyavirus du séro groupe C (n=8) ont continué à être détectés de façon sporadique entre avril et novembre 2023.

La métropole a enregistré 45 cas autochtones de dengue répartis en 9 foyers distincts : 4 foyers en PACA, 3 en Occitanie, 1 en ARA et pour la première fois un foyer en Île de France. Quatre foyers étaient dus à la dengue 2 importée des Antilles, deux foyers étaient dus à deux importations différentes de dengue 1, un foyer était dû à la dengue 3, et le sérotype impliqué n'a pas pu être identifié pour les deux foyers restants. Un épisode de transmission de la dengue via transplantation d'organes a également été enregistré en Ile de France.

Par ailleurs la métropole a enregistré un nombre record de cas autochtones d'infection par les virus West Nile et/ou Usutu avec 53 cas confirmés, dont 29 cas de WNV et 16 cas USUV. Huit cas supplémentaires n'ont pu être classés en raison des réactions croisées observées en PCR et sérologie. De surcroît le virus WN a émergé pour la première fois en Nouvelle Aquitaine avec 20 cas confirmés.

3.1 Description du réseau de partenaires

CNR-METRO

Le précédent CNR coordonnateur par l'IRBA a développé avec Santé Publique France un réseau de laboratoires participant à la surveillance annuelle et regroupant les LABM Eurofins, CERBA ainsi que 14 laboratoires hospitaliers répartis sur tout le territoire français et permettant ainsi une bonne couverture globale (Figure 13). Le CNR coordonnateur et Santé publique France organise une réunion annuelle avec le réseau de laboratoire, réunion permettant de nombreux échanges scientifiques et stratégiques. Ce réseau de laboratoires et ce mode de fonctionnement ont été maintenus avec la nouvelle mandature et le nouveau format du CNR.

La surveillance des arboviroses en métropole repose sur les interactions étroites entre le CNR, le réseau de laboratoires, les Agences Régionales de Santé et leurs CIRE associées. Le CNR n'est plus en première ligne pour le diagnostic de ces arboviroses. Celui-ci est réalisé par les laboratoires du réseau grâce à la mise à la nomenclature des analyses moléculaires et sérologiques pour le diagnostic de la dengue, chikungunya et de l'infection Zika.

Le CNR 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 notamment ; tests sur des matrices alternatives au sérum/plasma (LCR, urines, 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.



Figure 13. Répartition des laboratoires hospitaliers du réseau de surveillance Arbovirus sur le territoire français (métropole).

CNR-LA-IPG

Dans les DFA (Départements Français des Amériques), le CNR-LA IPG participe à la surveillance des arboviroses assurée par les cellules Antilles et Guyane de SpF en collaboration aux Antilles avec les laboratoires hospitaliers, l'Institut Pasteur de Guadeloupe ainsi que les laboratoires privés et en Guyane avec les laboratoires hospitaliers, les laboratoires privés ainsi que les Centres Délocalisés de Prévention et de 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.

CENTRE HOSPITALIER DE CAYENNE 16 Centres de santé

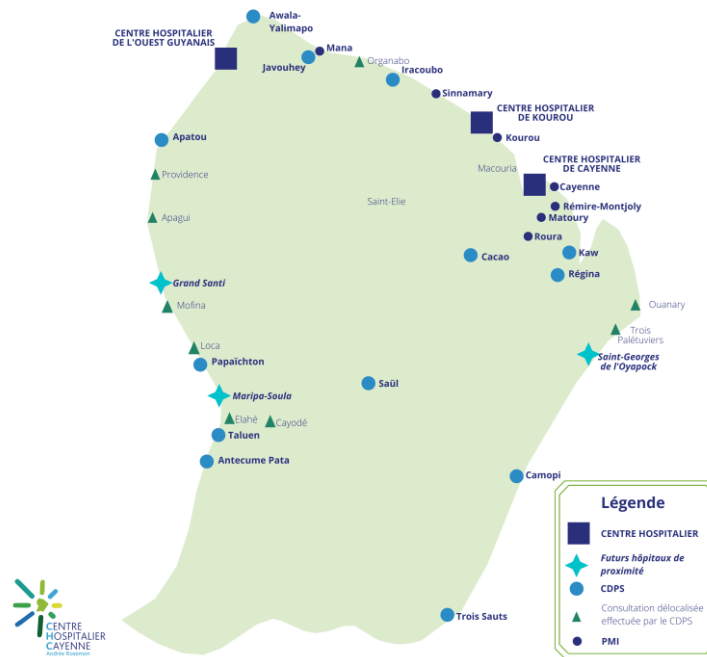


Figure 14. Les Laboratoires privés participant à la surveillance sont localisés respectivement sur l'île de Cayenne (Cayenne, Rémire-Montjoly, Matoury) à Kourou et à Saint Laurent du Maroni

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 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 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 pour formaliser et renforcer cette surveillance sous la coordination de l'ARS Guyane, et en collaboration avec les mêmes laboratoires privés et hospitaliers avait officiellement démarré en septembre 2022. Malheureusement, l'arrivée de l'épidémie de Dengue en 2023, avec la surcharge de travail occasionnée pour l'ensemble des laboratoires, et alors que l'adhésion à cette surveillance restait variable et fluctuante, a largement impacté son fonctionnement.

La surveillance a donc été fluctuante et toujours principalement portée sur l'île de Cayenne et sur Kourou. Le reste du territoire, avec notamment les régions de l'intérieur qui bien que moins peuplées sont susceptibles d'être exposées à différents arbovirus endémiques, est resté largement absent de cette surveillance.

CNR-LA-LR

Les partenaires sont :

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

- à Mayotte, le laboratoire du CHM ce qui permet de couvrir une 2^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.

-Cirad avec David Wilkinson

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

CNR-METRO

1. Épidémie de dengue dans les Antilles Française et en Guyane Française

Dans le cadre du suivi des épidémies de dengue aux Antilles et en Guyane en 2023, **210 séquences** virales ont été réalisées. Ce suivi a été formalisé sous forme de rapports transmis à Santé Publique France toutes les deux semaines entre juillet et décembre 2023 ainsi que sous la forme d'une publication dans le journal Eurosurveillance (doi : [10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123)). Les détails des résultats de ce suivi sont exposés en section 7.1.

2. Cas autochtones dengue en 2023

Entre début juillet et fin septembre 2023, 45 cas de dengue autochtone ont été rapportés en métropole, répartis sur neuf foyers de transmission (tableau 15). Parmi ces foyers, quatre étaient localisés en région PACA (Gardanne, Nice, Boulbon, Antibes), trois en Occitanie (Perpignan, Gagnières, Montpellier), un en région AURA (Bourg Lès Valence), et un en région Ile de France (Limeil-Brévannes).

Pour le foyer de Gardanne (4 cas), la séquence complète obtenue à partir du cas index importé de Martinique et la séquence partielle obtenue à partir d'un des cas autochtones ont permis de confirmer le lien avec les Antilles identifié par les enquêtes épidémiologiques.

Pour le foyer de Boulbon (10 cas), la séquence quasi-complète obtenue à partir d'un des cas autochtones suggère un lien avec l'Afrique de l'Ouest (Sénégal, Côte d'Ivoire, Burkina Faso).

Pour le foyer de Gagnières (9 cas) la séquence quasi-complète obtenue à parti d'un des cas autochtones suggère un lien avec l'Asie (Chine ou Thaïlande).

Pour le foyer de Bourg Lès Valence (2 cas), aucune séquence virale n'a pu être obtenue à partir ces cas humains. Néanmoins une séquence virale partielle obtenue à partir de moustiques capturés à proximité (100m) du lieu de résidence des cas a permis d'identifier un potentiel lien avec la Guadeloupe, suggéré également par les enquêtes épidémiologiques. Ce cas fait l'objet d'une publication en cours de révision dans Eurosurveillance.

Pour le foyer de Limeil-Brévannes (4 cas), la séquence virale quasi-complète obtenue à partir d'un des cas autochtones a permis de confirmer le lien avec les Antilles suggéré par les enquêtes épidémiologiques.

Pour le foyer de Montpellier (2 cas) la séquence complète obtenue à partir de l'un des cas autochtones suggère un import depuis le Mexique.

Aucunes données de séquençage n'a pu être obtenue pour les foyers de Nice (2 cas), d'Antibes (1 cas) et de Perpignan (11 cas).

Foyer/Cluster	Statut	Réception CNR	Sérologie	RT- qPCR	Séro- neutralisation	Culture	Séquençage	Origine (viro)*	Origine (épidémio)**
<i>Limeil-Brévannes-Cas importé</i>	Confirmé	Analysé au CNR	IgM seuls	DEN-NT	NR	Echec	Echec		Guadeloupe
Limeil-Brévannes-1	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-2	NR	Echec	Echec		
Limeil-Brévannes-2	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-2	NR	POS	POS	Antilles	
Limeil-Brévannes-3	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Limeil-Brévannes-4	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
<i>Bourg-Lès-Valence-Cas importé</i>	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		Guadeloupe
Bourg-Lès-Valence-1	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-NT	NR	NR	NR		
Bourg-Lès-Valence-2	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	POS	NR	NR		
Gagnières-1	Confirmé	Analysé au CNR	IgM seuls	DEN-NT	NR	Echec	Echec		
Gagnières-2	Confirmé	Analysé au CNR	NR	DEN-1	NR	NR	POS	Asie	
Gagnières-3	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Gagnières-4	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Gagnières-5	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Gagnières-6	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Gagnières-7	Probable	Analysé au CNR	POS	NEG	NR	NR	NR		
Gagnières-8	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Gagnières-9	Probable	Non reçu au CNR	NR	NR	NR	NR	NR		
<i>Perpignan-Cas importé</i>	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		Martinique
Perpignan-1	Confirmé	Analysé au CNR		DEN-2	NR	NR	Echec		
Perpignan-2	Probable	Analysé au CNR	POS	NEG	NR	NR	NR		
Perpignan-3	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-4	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-5	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-6	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-7	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-8	Probable	Analysé au CNR	NEG	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-9	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-10	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Perpignan-11	Probable	Non reçu au CNR	NF	NR	NR	NR	NR		
<i>Montpellier-Cas importé</i>	Confirmé	Analysé au CNR	NEG	DEN-3	NR	POS	POS	Mexique	Kenya

Montpellier-1	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Montpellier-2	Probable	Analysé au CNR	POS	NEG	NR	NR	NR		
Nice-1	Probable	Analysé au CNR	POS		DEN-2	NR	NR		
Nice-2	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NEG	DEN-2	NR	NR		
Antibes-1	Confirmé	Analysé au CNR	POS	NR	POS	NR	NR		
Boulbon-1	Confirmé	Analysé au CNR	IgM seuls	DEN-NT	NR	Echec	Echec		
Boulbon-2	Probable	Analysé au CNR	POS	NR	NR	NR	NR		
Boulbon-3	Probable	Non reçu au CNR	NR	NR	NR	NR	NR		
Boulbon-4	Probable	Non reçu au CNR	NR	NR	NR	NR	NR		
Boulbon-5	Confirmé	Analysé au CNR	NEG	DEN-1	NR	NR	POS partielle	Afrique de l'Ouest	
Boulbon-6	Probable	Non reçu au CNR	NR	NR	NR	NR	NR		
Boulbon-7	Probable	Non reçu au CNR	NR	NR	NR	NR	NR		
Boulbon-8	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-1	NR	POS D1	Echec		
Boulbon-9	Probable	Analysé au CNR	NR	DEN-NT	NR	Echec	NF		
Boulbon-10	Probable	Analysé au CNR	POS	NF	NR	NR	NR		
Gardannes-Cas importé	Confirmé	Analysé au CNR	NEG	DEN-2	NR	POS	POS	Antilles	Martinique
Gardannes-Cas importé	Probable	Non reçu au CNR	NR	NR	NR	NR	NR		
Gardannes-1	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-2	NR	POS	POS	Antilles	
Gardannes-2	Probable	Analysé au CNR	NEG	NEG	NR	NR	NR		
Gardannes-3	Confirmé	Analysé au CNR	POS	DEN-2	NR	NR	NR		
Gardannes-4	Confirmé	Analysé au CNR	NR	DEN-2	NR	NR	POS	Antilles	

Tableau 15. Foyers de dengue autochtone d'infection survenus en France métropolitaine en 2023. NT : non typable ; NR : non réalisé ; *origine géographique déduite des analyses phylogénétiques ; ** origine géographique déduite des enquêtes épidémiologiques

3. Transmission du virus de la dengue par transplantation d'organes

Des cas de transmission du virus de la dengue après transplantation d'organes solides sont survenus en métropole en 2023. Le donneur avait séjourné en Martinique, avec un retour en métropole un mois avant son décès des suites d'une hémorragie cérébrale après rupture d'anévrisme. Les PCR sur sang périphérique étaient négatives notamment pour le virus de la dengue. En revanche les sérologies IgM et des IgG étaient positives pour les flavivirus. Ont été prélevés et greffés : les deux reins, le foie et les poumons.

Le receveur du rein gauche, porteur d'un trait drépanocytaire, a présenté dans les jours suivant la greffe une dysfonction rénale suivie à J+7 d'un syndrome fébrile avec myalgies, arthralgies, thrombopénie et une cytolyse

hépatique. L'évolution a été défavorable avec l'apparition d'une bicytopenie, d'une aggravation de la thrombopénie, d'un œdème pulmonaire. Le patient est décédé à J+14.

Sur le plan biologique, la sérologie d'avant greffe ainsi que les tests réalisés sur 3 poches de CGR reçus étaient négatifs. A J+5 après la greffe, les tests de détection de l'antigène NS1 circulant et la RT-PCR DENV-2 étaient positifs. La souche virale a été isolée au CNR et l'analyse phylogénétique a montré sa correspondance avec les souches circulantes dans l'épidémie concomitante aux Antilles.

Le receveur du rein droit est resté asymptomatique et a été testé suite au diagnostic du receveur précédent. Ce patient est originaire des Antilles, mais sans historique de voyage récent avant la date de la greffe. Les investigations biologiques ont retrouvé une PCR dengue faiblement positive (non typable) jusqu'à 17 jours post-transplantation, et la présence d'IgG anti-dengue. L'absence de détection d'IgM est compatible avec une possible dengue secondaire au décours de laquelle les IgM peuvent être furtifs.

Le receveur des poumons est resté aussi asymptomatique, sans évidence biologique en faveur d'une infection par le virus de la dengue.

Le receveur de foie, asymptomatique également, a présenté une PCR dengue faiblement positive à J+14 de la greffe, avec une sérologie équivoque en IgM et IgG dengue.

Aucun des receveurs n'avait voyagé dans les semaines précédant leur greffe. Cet épisode de transmission fait l'objet d'une publication en cours de rédaction.

4. Cas de West Nile en 2023

➤ Virus West Nile en métropole en 2023

En 2023 le CNR-METRO a confirmé 53 cas autochtones d'infections à virus West Nile (WNV) et Usutu (USUV), dont 29 cas de WNV, 16 cas USUV. Pour 8 cas supplémentaires, la distinction entre virus West Nile et Usutu s'est avérée impossible (colonne « indéterminé USUV/WNV » du tableau) étant donné les réactions croisées en sérologie et en PCR. Le virus WN a émergé pour la 1^{ère} fois en nouvelle Aquitaine avec 20 cas confirmés (tableau 16). Parmi 25 cas confirmés de WNV pour lesquels l'information clinique est connue, 23 ont présentés des signes cliniques (6 syndromes neurologiques, 6 syndromes fébriles isolés, 9 rash cutanés fébriles, et 2 céphalées asthénie) et 2 étaient asymptomatiques (donneurs de sang).

REGION / DEPARTEMENT	Confirmé USUV	Confirmé	
		WNV	Indéterminé USUV / WNV
Auvergne Rhône Alpes			
Isère	1		
Bourgogne Franche Comté			
Côte d'Or	5		
Centre Val de Loire			
Indre-et-Loire	1		1
Corse			
Haute Corse		2	
Nouvelle Aquitaine			
Charentes	1	1	
Charentes-Maritimes	1	3	1
Gironde	4	16	5
Haute Vienne	1		
Landes	2		1
Provence Alpes Côte d'Azur			
Alpes-Maritimes		3	
Bouches-du-Rhône		2	
Var		2	
Total	16	29	8

Tableau 16. Nombre des cas confirmés de West Nile et Usutu en 2023.

Un total de 6 cas importés a été diagnostiqué au CNR (Balkans, Maroc, Autriche ou Croatie, Italie et Tunisie).

➤ Cas de décès chez un enfant

Un enfant de 2 mois, présentant un syndrome neurologique fébrile lors d'un séjour au Maroc, a été diagnostiqué positif pour le virus West Nile. Les IgM étaient détectables dans le LCR, le sérum et le plasma. L'étiologie a été confirmée par séroneutralisation. Ce cas a fait l'objet d'une publication (Rossillon L, Hayotte A, Caseris M, Grard G, Ntorkou A, Levy M. West Nile meningoencephalitis in infants: look for thalamic involvement. Lancet Infect Dis. 2024 Mar;24(3):e206. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00761-2. PMID: 38395591.)

5. Cas d'infections par le virus Usutu

Parmi les 16 cas USUV confirmés, 2 ont présentés des signes cliniques faibles (l'un douleur rétro orbitaire, l'autre des céphalées rapportées rétrospectivement). Tous étaient des donneurs de sang.

Un donneur de sang revenant d'Italie a été testé rétrospectivement positif pour le virus Usutu (PCR faiblement positive). Le donneur est resté asymptomatique et les produits sanguins ont été transfusés avant que le résultat de PCR ne soit connu : une poche de CGR, et deux poches de concentré plaquettaire (poolé avec 5 autres dons). Parmi les trois receveurs, un a été perdu de vue et n'a pas pu être recontrôlé, un n'a pas présenté de PCR ou de sérologie positive (séroneutralisation non réalisable), et le dernier a présenté des séroneutralisation positive pour le virus USUV, sans IgM ni IgG ni PCR positive.

Un cas d'infection sévère par le virus USUV a été diagnostiqué chez un patient ayant présenté un choc cardiogénique accompagné de myocardite, de SRIS sévère et d'une dysfonction rénale nécessitant une dialyse. Ce patient est resté en réanimation intubé ventilé durant une dizaine de jours. Aucune étiologie n'a été retrouvée, exceptée une infection par le virus Usutu : PCR positives sur plusieurs prélèvements précoces, séroconversion IgM et IgG, séroneutralisation

positive. La souche a été isolée et séquencée (origine proche du lignage qui a circulé en France en Haute Vienne en 2018). Une investigation approfondie sur le plan immunologique est en cours. Ce cas sera rapporté à l'issue.

6. Infections par le virus TBEV

En 2023, 22 cas confirmés d'infections récentes par TBEV ont été détectés au CNR. Tous les cas présentaient des symptômes neurologiques, et tous les diagnostics ont été posés sur la base de résultats sérologiques (sérologies sanguines positives en IgM et IgG, éventuellement associées à des IgM intrathécaux). Treize cas ont été considérés comme autochtones (pas de notion de voyage ou donnée inconnue), et neufs cas ont été importés (retour d'Autriche, Serbie, Allemagne/Canada, Italie, Suisse, Pays Bas, Suède). Sept patients ont déclaré des piqûres de tiques, et deux infections pourraient être liées à la consommation de produits laitiers non pasteurisés.

7. Cas d'encéphalite japonaise

En 2023, deux cas d'infection par JEV ont été identifiés. Le premier cas était de retour du Cambodge avec des symptômes neurologiques. Le diagnostic a été posé par détection du génome viral dans les urines et des IgM dans le LCR et le sérum. Un prélèvement sanguin de contrôle un mois après le début des symptômes a montré la séroconversion des IgG dont la spécificité a été confirmée par séroneutralisation.

Le deuxième cas présentait des symptômes neurologiques au retour d'un voyage au Vietnam. La PCR était positive dans le plasma, avec également détection des IgM dans le LCR, le sérum et le plasma. L'apparition d'IgG spécifiques a été confirmée par séroneutralisation.

Le diagnostic des cas de JEV par PCR reste très rare en raison de la charge virale très faible et de la courte fenêtre virémique ; à ce jour, moins de 10 cas avec une PCR JEV positive dans les urines ont été décrits dans la littérature.

CNR-LA-IPG

Dans les DFA, des foyers épidémiques de dengue associés à des cas sporadiques (phase 2 niveau 1) ont été déclarés en décembre 2022 en Guadeloupe, en février 2023 en Martinique et en avril 2023 en Guyane pour le secteur des Savanes. La circulation virale s'est ensuite poursuivie sur plusieurs mois avec une intensification progressive. Les épidémies (phase 4) ont ensuite été déclarées, pour la Martinique le 22 août 2023, pour la Guadeloupe le 1er septembre et pour la Guyane en juillet 2023 pour le secteur des Savanes puis en septembre 2023 pour le littoral ouest et l'île de Cayenne (figures 15 A à C). Les îles de Saint Martin et Saint Barthélemy sont quant à elles passées en phase 2 en octobre, puis en épidémie en novembre 2023. En Guyane, la circulation épidémique est restée d'intensité modérée jusqu'en fin d'année où une forte hausse a été observée notamment sur l'île de Cayenne.

Aux Antilles, les épidémies étaient en rapport avec une circulation du sérotype 2, tandis qu'en Guyane le sérotype 3 a été d'abord largement majoritaire pendant plusieurs mois avant de co-circuler avec le sérotype 2.

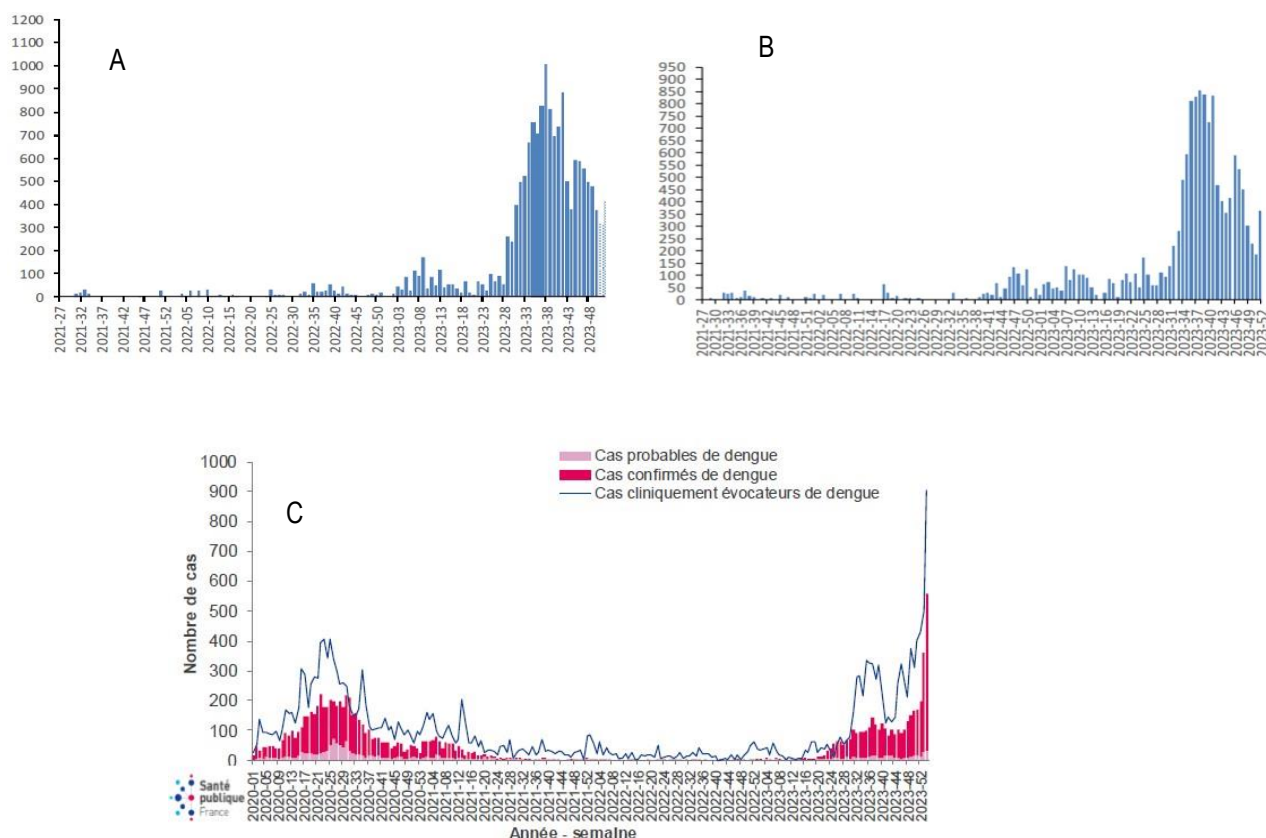


Figure 15: Nombre hebdomadaire de cas cliniquement évocateurs de Dengue - source SPF : **A** : Martinique, sem 2012-27 à 2023-52 ; **B** : Guadeloupe, sem 2012-27 à 2023-52 ; **C** : Guyane, sem 2020-01 à 2023-52

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

ORIGINE	Total plvts reçus en 2023	Nb Plvts testés en PCR	Nb PCR DEN	PCR DEN POS	DEN 1	DEN 2	DEN 3	Nb PCR CHIK	Nb PCR ZIKA	Nb PCR TON	Nb PCR YFV	Nb PCR MAY et ORO	Nb PCR Ilheus et SLE	Nb PCR JEV et WN	Nb PCR Bujaru like	Nb PCR OBV	PCR OBV POS
Guyane	5942	5228	5157	2035	16	267	1752	980	963	7	600	599	566	578	591	597	8
Centres de santé	137	101	97	56	4	2	50	25	28		23	24	23	20	23	23	
CH Cayenne	1360	895	883	255	2	91	162	266	254	4	196	195	185	188	193	194	1
CH Saint Laurent	634	468	417	366		5	361	76	85	3	12	12	11	11	11	12	
Labo Kourou	2158	2142	2140	856	8	15	833	395	378		153	153	144	149	151	153	4
Labo Saint Laurent	157	155	154	61			61	8	9		10	10	10	10	10	10	
Labos Ile de Cayenne	1496	1467	1466	441	2	154	285	210	209		206	205	193	200	203	205	3
Martinique	87	87	85	73		73		6	3		2						
Guadeloupe	331	331	331	309	1	308											
Saint Barth	55	55	55	41		41											
Saint Martin	71	71	71	34		34											
Total général	6486	5772	5699	2492	17	723	1752	986	966	7	602	599	566	578	591	597	8

Tableau 17 : Prélèvements reçus en 2023 en fonction de leur origine avec bilan des analyses moléculaires réalisées, et les résultats positifs obtenus

Si dans l'ensemble des Antilles françaises, le sérotype de Dengue circulant correspondait au sérotype 2, en Guyane le sérotype majoritaire était le sérotype 3, même si le sérotype 2 est venu co-circuler de façon très significative notamment sur l'Ile de Cayenne, à l'occasion de l'accélération brutale de l'épidémie observée en fin d'année.

A cette circulation épidémique de virus Dengue sur l'ensemble des DFA, se sont ajoutées, en Guyane, de nouvelles détections d'infection par un Orthobunyavirus. Ces détections ont été réalisées à l'aide d'une qRT-MCR triplex maison ciblant le segment S des OBV du séro groupe C : 6 OBV ont été détectés avec une cible Oriboca-like et 2 avec une cible Caraparu-like. Les infections, sans lien épidémiologique entre elles, sont intervenues entre avril et novembre 2023, sur une zone géographique large.

- Cas n°1 Caraparu-like en avril 2023 : femme de 29 ans ayant présenté un syndrome dengue-like 4 jours après le retour d'un WE aux marais de Kaw. (Un second prélèvement réalisé à J11 après le début des symptômes n'a pas permis de mettre en évidence d'anticorps anti Oriboca / pas d'outil sérologique pour Caraparu).
- Cas n°2 Oriboca-like en juin 2023 : femme de 22 ans ayant présenté un syndrome dengue-like 4 jours après le retour d'un WE en carbet sur la route de Kaw. Un second prélèvement réalisé à J37 après le début des symptômes a permis de mettre en évidence la présence d'IgM Oriboca.
- Cas n°3 Oriboca-like en juillet 2023 : homme (militaire) de 40 ans ayant présenté un syndrome dengue-like 3 jours après un retour de mission carbet route du dégrad Saramaca. Un second prélèvement réalisé à J16 après le début des symptômes a permis de mettre en évidence la présence d'IgM Oriboca.
- Cas n°4 Oriboca-like en août 2023 : homme de 38 ans ayant présenté un syndrome dengue-like avec malaise sur la voie publique ayant justifié un transfert aux urgences : lieu de contamination présumé, environs de Kourou. Un second prélèvement réalisé à J15 après le début des symptômes a permis de mettre en évidence la présence d'IgM Oriboca.
- Cas n°5 Oriboca-like en août 2023 : femme de 27 ans ayant présenté un syndrome dengue-like 6 jours après le retour d'un séjour en forêt Crique Matarony, savane Roche Annabelle. Pas de second prélèvement.
- Cas n°6 Oriboca-like en août 2023 : femme de 39 ans ayant présenté un syndrome dengue-like 3 jours après une journée passée au PK21, route du dégrad Saramaca. Un second prélèvement réalisé à J17 après le début des symptômes n'a pas permis de mettre en évidence d'anticorps anti Oriboca. A noter le séquençage du segment S du virus associé à cette infection se distingue des séquences des autres virus Oriboca-like, avec un virus plus proche du virus Restan que du virus Oriboca.
- Cas n°7 Oriboca-like en octobre 2023 : homme (gendarme) de 43 ans ayant présenté un syndrome dengue-like marqué 3 jours après une journée passée au PK21, route du dégrad Saramaca. Un second prélèvement réalisé à J9 après le début des symptômes a permis de mettre en évidence la présence d'IgM Oriboca.
- Cas n°8 Caraparu-like en novembre 2023 : femme de 32 ans ayant présenté un syndrome dengue-like. Cette patiente, enseignante à Cayenne et habitant à Matoury ne rapporte aucun déplacement particulier dans les 15 jours ayant précédé le début des symptômes.

ORIGINE	Total plvts reçus en 2023	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 alpha*	IgM Flavi + alpha*		
Guyane	5942	1020	994	864	77	17	2	11	15	6	2	0	994	140
Centres de santé	137	52	49	47	1	1							49	4
CH Cayenne	1360	691	766	672	60	12	1	9	6	4	2		766	108
CH Saint Laurent	634	209	103	85	12	2	1		1	2			103	23
Labo Kourou	2158	17	20	16	2	1			1				20	
Labo Saint Laurent	157	5	5	4					1				5	1
Labos Ile de Cayenn	1496	46	51	40	2	1		2	6				51	4
Martinique	87	14	21	14	7								21	3
Guadeloupe	331													
Saint Barth	55													
Saint Martin	71													
Total général	6486	1034	1015	878	84	17	2	11	15	6	2	0	1015	143

Tableau 18 : Prélèvements reçus en 2023 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques (hors Zika) réalisées, et les résultats obtenus

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

ORIGINE	Total plvts reçus en 2023	Sérologie Zika		
		Nbre Plvts testés	% IgM Pos	% IgG Pos
Guyane	5942	396	6,8%	42%
Centres de santé	137	17	11,8%	24%
CH Cayenne	1360	174	5,2%	39%
CH Saint Laurent	634	197	7,6%	45%
Labo Kourou	2158	5	20,0%	60%
Labo Saint Laurent	157	0		
Labos Ile de Cayenne	1496	3	0,0%	33%
Martinique	87	4	25,0%	25%
Guadeloupe	331			
Saint Barth	55			
Saint Martin	71			
Total général	6486	400	7,0%	42%

Tableau 19 : Prélèvements reçus en 2023 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques Zika réalisées, et les résultats obtenus

Par rapport à l'année précédente, la proportion de prélèvements présentant des IgM positives parmi les prélèvements testés en 2023 montre une augmentation de la proportion d'IgM positives anti Flavivirus (augmentation d'un facteur proche de 3) cohérente avec le retour d'une circulation épidémique de virus Dengue, tandis que la proportion d'IgM positives anti Alphavirus reste stable.

CNR-LA-LR

Il n'y a pas eu d'épidémie de Dengue en 2023. Sur l'année, 218 cas ont été confirmés à la Réunion, avec la détection majoritaire d'un sérotype unique, le DENV2. On note un cas de type 1 dans un contexte de réactivation chez un patient immunodéprimé infecté par un type 1 en 2022. La circulation du virus a été modérée au cours de l'été austral et est restée à bas bruit tout au long de l'hiver. Le Sud de la Réunion a été la région la plus touchée.

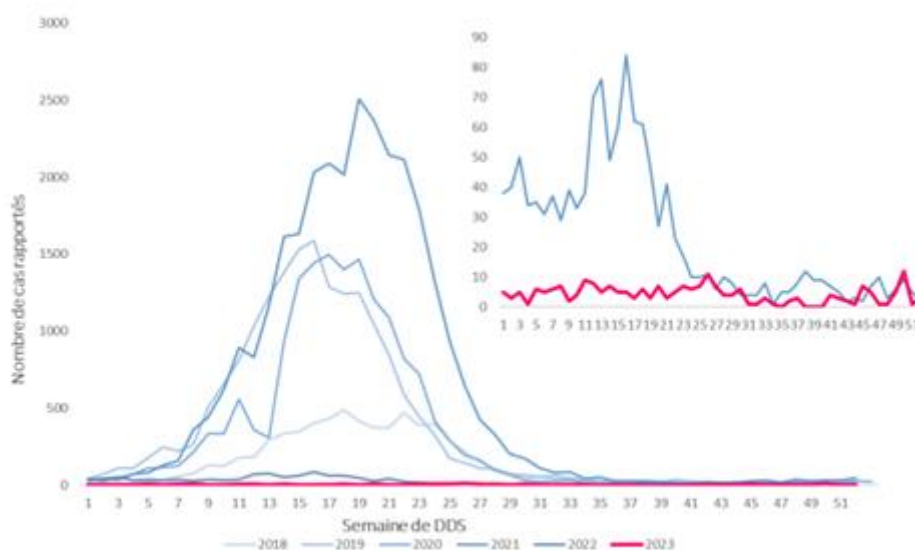


Figure 1 : Nombre de cas de dengue hebdomadaire signalés, par semaine de DDS, 2018-2023 et zoom 2022-2023

Figure 16 : Distribution des cas de dengue par semaine de DDS (date de début des symptômes), La Réunion (S01/2018 à S48/2022). Point épidémiologique Dengue Régional 2022, SPF Réunion.

	2023	2022 (S48)	2021
Cas confirmés	218	1 183	29 577
Saison épidémique (pic)	Absence d'épidémie	Absence d'épidémie	S8-S26 (S19)
Région la plus touchée	Sud	Sud	Ouest
Passages aux urgences	70	190	4 077
Hospitalisations >24h	12	61	1 185
dont formes sévères	2	24%	27%
Décès	0	3	33

Tableau 20: Bilan des données de surveillance de la Dengue à la Réunion en 2023. Données du point épidémiologique Dengue Régional 2023, SPF Réunion.

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

Avec la mise en place d'un suivi génomique systématique pour tous les cas positifs en biologie moléculaire et en culture cellulaire, le CNR LC-METRO 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 en cours de révision chez Nature Communications (biorxiv doi : 10.1101/2024.04.10.588695).

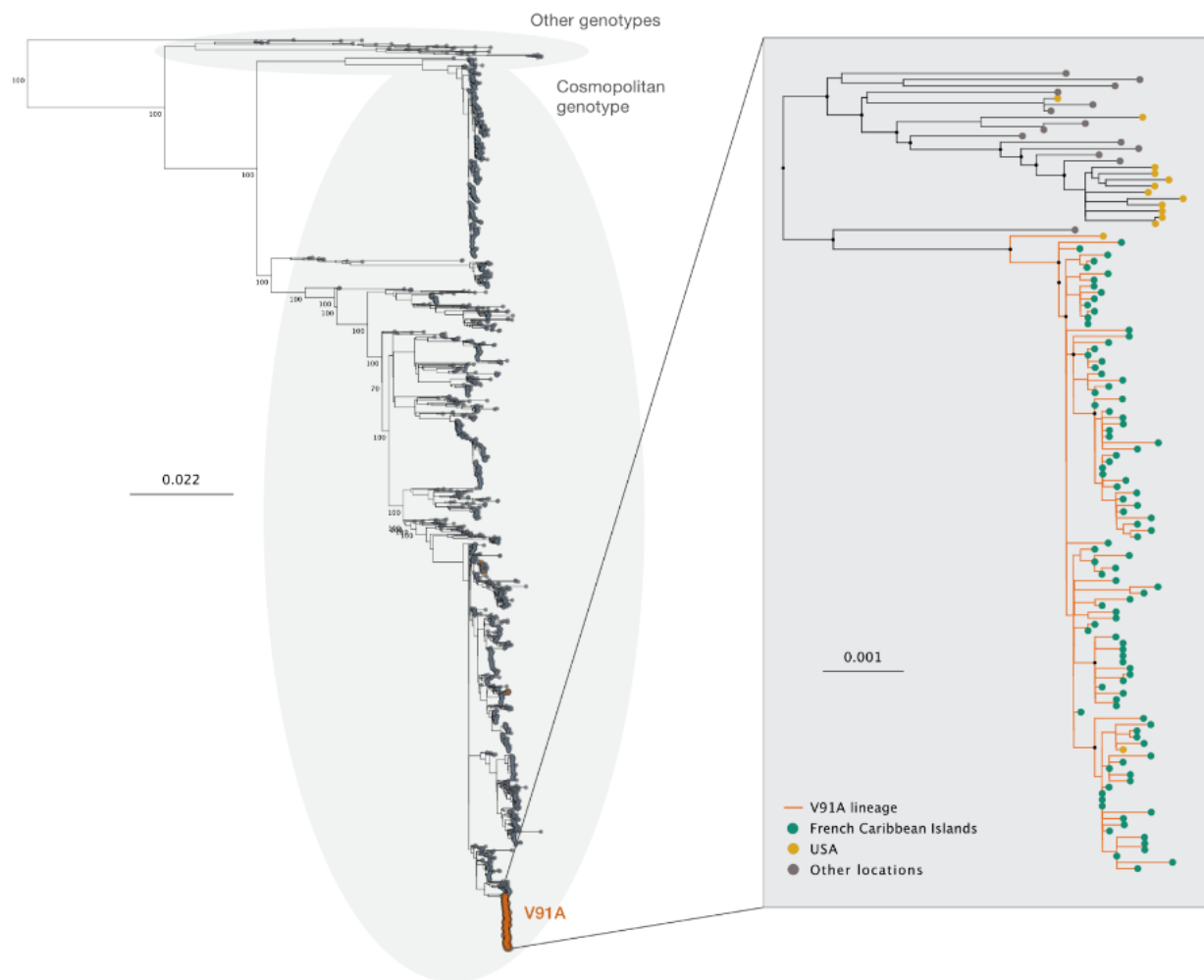


Figure 17 : Figure 1. La mutation NS4B:V91A est présente dans l'ensemble du clade épidémique des Antilles et son ancêtre phylogénétique le plus proche. Phylogénie en maximum de vraisemblance de tous les génomes publiquement disponibles pour l'épidémie des Antilles françaises de 2023-2024 combinées à toutes les séquences DENV2 du génotype Cosmopolitan couvrant plus de 85 % de la séquence codante disponibles sur Genbank en mars 2024 et à un ensemble de séquences de référence provenant d'autres génotypes. Les séquences des Antilles françaises sont mises en évidence en vert d'eau et les séquences des États-Unis (Floride) sont colorées en jaune moutarde. Les séquences provenant d'autres endroits sont colorées en gris. Les branches sont colorées en orange pour les lignées présentant la mutation V91A.

4. Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

CNR-METRO

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

- au travers de l'envoi hebdomadaire par fichier sécurisé des résultats de surveillance chikungunya, dengue et Zika en métropole, 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).
- Le cas échéant au travers de l'envoi régulier des résultats de la surveillance génomique (cf paragraphe 3.2)

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.

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

Le CNR-METRO a également candidaté avec succès pour être laboratoire de référence européen pour les arbovirus (EURL PH VBZ) au sein d'un consortium de 5 laboratoires européens (Hollande, Grèce, Slovénie et Italie). Le mandat prendra effet au 1^{er} janvier 2025.

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.

CNR-LA-LR

Le laboratoire collabore au quotidien avec

*Santé publique France via :

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

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

*le CNR Arbovirus de Marseille

-échanges sur méthodes de référence

-expertise de cas

-vérification de séquençage sur Illumina...

4.1 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

CNR-METRO

Suite à la détection de cas équités d'infection à WNV en Nouvelle Aquitaine en 2022, un consortium de recherche pluridisciplinaire s'est mis en place dans la région. 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). 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 a été fortement sollicité pour la confirmation de cas de West Nile / Usutu lorsque le DGV de l'EFS était positif (voir supra). Le CNR a également été sollicité pour les tests rétrospectifs des dons de sang dans les régions touchées par le virus West Nile, Usutu ou de la 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 seront produits en 2024.

CNR-LA-IPG

Participation au dispositif Dengue sans Ordonnance – ARS Guyane juin 2023

Devant la situation épidémiologique de la dengue en Guyane, l'ARS Guyane a décidé la mise en place en juin 2023, d'un dispositif pilote « Au labo sans ordo » sur la commune de Kourou touchée par un foyer épidémique actif. Compte tenu de l'importance de l'intervention autour des premiers cas pour endiguer un risque épidémique, l'objectif de cette intervention était dans la période pré-épidémique, de repérer et tester au plus vite les premiers patients symptomatiques.

Ce dispositif expérimental visait, sur la période allant du lundi 05 au vendredi 30 juin, à encourager les patients symptomatiques et exposés de la zone à se faire tester, sans nécessité de consulter un médecin, afin de permettre de :

- Détecter le plus précocement possible des cas de dengue pour anticiper la gestion sanitaire associée ;
- Diagnostiquer plus tôt, mettre en œuvre les mesures de gestion individuelles adaptées et inciter à consulter les médecins le cas échéant ;

- Evaluer la portée d'un dispositif de test sans ordonnance en termes d'intérêt des patients et de repérage supplémentaire de cas.

Dans le cadre de ce dispositif, le CNR-LA-IPG a reçu 83 prélèvements, parmi lesquels 39 se sont avérés positifs pour un virus Dengue (38 Dengue 3 et 1 Dengue 1). Les résultats étaient communiqués aux autorités de santé et aux laboratoires transmetteurs en moins de 24h après réception des échantillons.

Les prélèvements reçus dans le cadre de ce dispositif correspondent à près de 30% du total des prélèvements reçus des laboratoires de Kourou sur la période concernée (83 / 288), et près de 30% des diagnostics positifs (39 /134) témoignant de la capacité de ce dispositif à améliorer la sensibilité et la réactivité de la surveillance en période pré-épidémique.

A noter : le % de positivité des prélèvements sans ordonnance était très similaire au % de positivité des prélèvements avec ordonnance (47% versus 46.3%).

CNR-LA-LR

Pas de nouveaux éléments pour 2023.

5. Alertes

CNR-LC-METRO

Rien à signaler en 2023.

CNR-LA-IPG

Le CNR-LA-IPG a effectué 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 différents événements inhabituels.

- **La mise en évidence de défauts de détection sur les Kits de PCR Dengue Eurobio (kit de détection Eurobio EBX-009 et kit de typage Eurobio EBX-018) – cf chapitre 2.2.**

Ce signalement a également été transmis également à SpF aux Antilles ainsi qu'aux différents laboratoires de Guyane et des Antilles susceptibles d'utiliser ces kits. En parallèle une déclaration de réactovigilance a été faite par le laboratoire du Centre Hospitalier de Cayenne auprès de l'ANSM.

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

Cela a été le cas pour les infections Dengue détectées de façon sporadique sur les 5 premiers mois de l'année : avec en janvier 2 cas de Dengue 3 (1 à SLM et 1 à Kourou), en avril, 4 cas de Dengue 3 (2 à SLM et 2 à Kourou), puis en mai, 3 cas de Dengue 3 (2 Ile de Cayenne et 1 à Kourou) et 1 cas de Dengue 2 (Ile de Cayenne).

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

Dans le cadre de la surveillance des arbovirus autres que les virus Dengue, Chikungunya et Zika, **8 nouveaux OBV** du serogroupe C ont été détectés en 2023 et 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
- de sérologies faussement positives en IgM chikungunya
- de PCR faussement positives en LABM en chikungunya
- investigation à propos des cas de type 2 de dengue circulant dans le sud de l'île ; analyses génomiques montrant (séquence par la technique Oxford Nanopore) que ce virus DENV2 est du génotype 2 type cosmopolitain mais différent de celui qui a circulé de 2017 à 2020 à la Réunion (lui aussi génotype 2 type cosmopolitain) et différent de celui qui circule aux Antilles (lui aussi génotype 2 type cosmopolitain)
- syndrome infectieux aux Comores sans agent pathogène identifié, reunion avec ARS Réunion et Mayotte

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

6.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

CNR-LC-METRO

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 dans le but de leur expliquer le but du travail du CNR, la possibilité et comment de d'accéder, modifier et supprimer les données les concernant.

Le CNR est toujours à la disposition des professionnels de santé pour répondre à tous leurs questionnements. Nous évaluons l'activité de prestations de conseils téléphonique à environ 1h30 par jour, par courriel et par téléphone.

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).

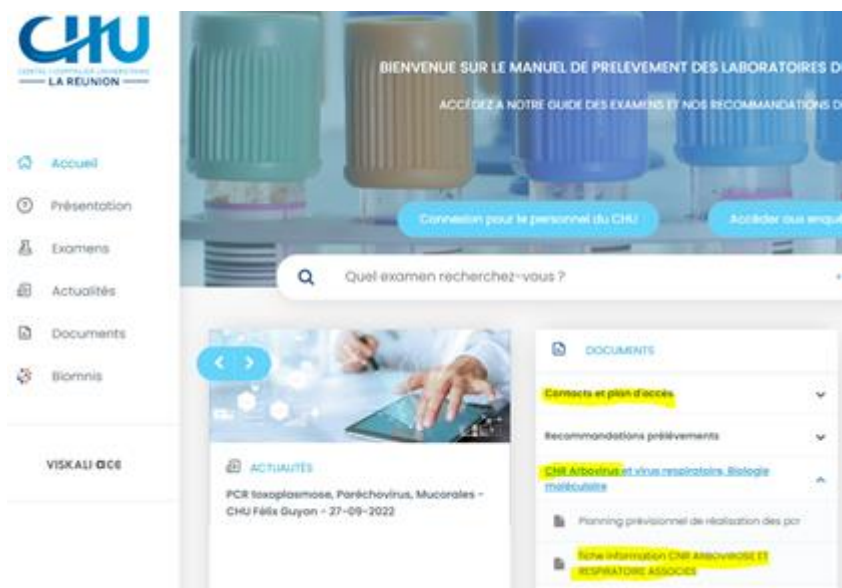
Pour des questions plus médicales, un infectiologue référent prend le relais : Dr Carole Eldin, infectiologue à l'Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille , ou Dr Denis Malvy, CHU de Bordeaux.

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 cnrabo@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.

CNR-LA-LR

Afin de mettre en avant l'expertise CNR du CHU Réunion, les contacts ont été mis spécifiquement sur le manuel de prélèvement, mis à jour régulièrement par ailleurs. De même, un encart spécifique a été créé sur la page d'accueil du manuel de prélèvement <https://lbm-chureunion.manuelprelevement.fr/> avec mise à disposition d'une fiche d'information (envois, missions, RGPD, ...)



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

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

Nous communiquons et échangeons en permanence avec SPF et les autres laboratoires privés et publique sur les cas positifs ou douteux (notamment en sérologie et pour le sérotypage) pour le transfert des échantillons au CNR-LR.

6.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Le **CNR-METRO** apporte son expertise aux réunions du Sechpro, aux saisines de la DGS aux recommandations rédigées par l'ECDC et l'OMS.

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

- Activités de conseil et expertise auprès des ARS Martinique, Guadeloupe, Guyane, et des cellules Antilles et Guyane de Santé publique France
- Membre du Comité maladies infectieuses émergentes (CMIE) en Guyane
- Membre du réseau RELDA (Arbovirus Diagnosis laboratory Network of the Americas) de la PAHO
- Membre du groupe de travail Arbo-France (depuis 2019)

CNR-LR :

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

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

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).

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

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

Analyse de la circulation de la lignée épidémique DENV2 aux Antilles françaises et de son expansion vers la Guyane française et la France métropolitaine, 2023-2024

Le CNR-LC et les trois CNR-LA ont généré plus de 150 séquences complètes du virus 2 de la dengue afin de réaliser le suivi génomique du virus de la dengue 2 et détailler sa circulation durant l'épidémie des Antilles françaises en 2023-2024. Grâce à l'analyse phylogénétique de ces séquences, nous avons identifié un changement de dynamique dans la circulation aux Antilles par rapport aux épidémies précédentes, avec une lignée unique de virus de la dengue 2 circulant à la fois dans les îles de la Guadeloupe et de la Martinique, et des introductions à Saint Barthélemy et Saint Martin. Nous avons également montré que la lignée épidémique s'est établie en Guyane française, au milieu d'une épidémie de dengue 3, mais pas sur l'île de la Réunion. Finalement, nous avons mis en évidence que tous les événements de circulation autochtone associés à la dengue 2 en France métropolitaine en 2023 pour lesquels des séquences virales ont pu être produites résultaient d'introductions à partir de l'épidémie des Antilles (ces travaux font l'objet d'une publications dans Eurosurveillance: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123).

Surveillance en temps réel du virus du Nil occidental et du virus Usutu dans les populations de moustiques grâce au xénomonitoring moléculaire.

La stratégie MX (Molecular Xenomonitoring) a été mise en oeuvre pour la détection de la circulation du WNV et d'USUV dans les populations de moustiques dans les zones rurales et urbaines de la région Nouvelle-Aquitaine (France) entre juillet et août 2023, en utilisant des pièges BG Sentinel modifiés. Nous avons identifié des moustiques infectés par WNV et USUV dans 3 zones différentes, en même temps que les premiers cas humains signalés dans la région. Les excréments des moustiques piégés ont révélé une importante co-circulation des virus (75 % des pièges contenaient des excréments PCR+ pour au moins l'un des deux virus). Cx. pipiens était l'espèce la plus communément infectée à la fois par le WNV et l'USUV. Quatre souches de WNV et trois souches d'USUV ont été isolées à partir de moustiques piégés. Nous avons produit 17 séquences du WNV et 6 séquences d'USUV à partir d'excreta de moustiques, de moustiques entiers, et d'isolats. L'analyse de ces données génomiques a permis de montrer la circulation de la lignée 2 du WNV et de la lignée Africa 3 d'USUV, toutes deux phylogénétiquement proches des souches qui ont circulé en Europe au cours des dernières années. Notamment, les séquences de WNV sont distinctes des WNV identifiés dans le sud de la France en 2022 et en 2018 et proches de séquences d'Autriche et de Slovaquie de 2014-2016 ainsi que des souches d'Allemagne récentes (de 2018 à 2020 majoritairement). Les séquences d'USUV sont proches de séquences identifiées en France en 2018 en Haute-Vienne (ces travaux font l'objet d'une publication en cours de révision dans le journal Nature Communications, biorxiv doi : 10.1101/2024.04.10.588707).

Analyse génomique montrant que la lignée du virus de la dengue 2 responsable de l'épidémie de 2023-2024 dans les Antilles est résistante au Mosnodenvir

Détaillée en section 3.3

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.

L'analyse phylogénétique des souches de Dengue 2 et Dengue 3 ayant circulé dans les DFA entre 2000 et 2023, montre une évolution constante des souches en faveur d'échanges intenses au niveau interrégional et intercontinental. Des phénomènes d'introductions suivis d'extinctions de souches, de sous lignages, lignages voire génotypes différents, se succèdent.

Si pour la Dengue 3, les virus séquencés appartiennent tous au génotype III, de fréquents remplacements de lignage sont observés avec notamment entre 2019 et 2023, la succession de 3 lignages différents vraisemblablement importés d'Asie.

Pour la Dengue 2, après une circulation prolongée du génotype asian american, détecté en Guyane jusqu'en

2019, l'introduction d'un nouveau génotype, le génotype cosmopolite, là encore vraisemblablement importé d'Asie, est intervenue. Une première circulation du génotype cosmopolite, lignage «sous continent indien» a été détectée en 2019-2020 aux Antilles, remplacé en 2022-2023 aux Antilles comme en Guyane par le lignage «autre» du génotype cosmopolite (cf Figure ci-dessous).

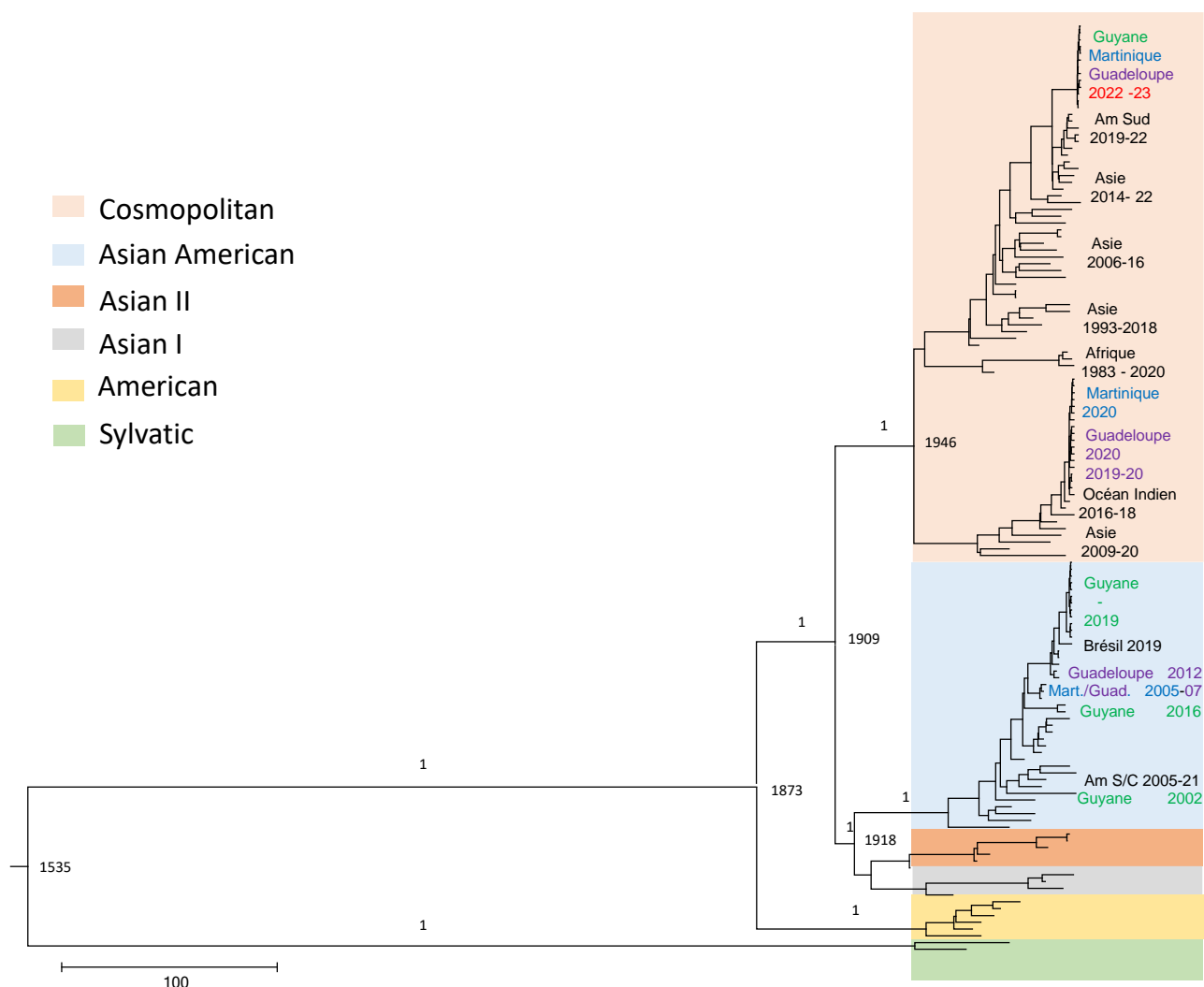


Figure : Evolution des souches de Dengue 2 ayant circulé dans les DFA entre 2002 et 2023, appartenant successivement au génotype asian american puis au génotype cosmopolite. (Analyse Bayésienne, 35 séquences obtenues par le CNR-LA-IPG et 102 références obtenues de GenBank).

Publications en cours de préparation.

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

(i) Publications nationales

Epelboin L, Abboud P, Abdelmoumen K, About F, Adenis A, Blaise T, Blaizot R, Bonifay T, Bourne-Watrin M, Boutrou M, Carles G, Carlier PY, Carod JF, Carvalho L, Couppie P, De Toffol B, Delon F, Demar M, Destoop J, Douine M, Droz JP, Elenga N, Enfissi A, Franck YK, Fremery A, Gaillet M, Kallel H, Kpangon AA, Lavergne A, Le Turnier P,

Maisonobe L, Michaud C, Mutricy R, Nacher M, Naldjinan-Kodbaye R, Oberlis M, Odonne G, Osei L, Pujo J, Rabier S, Roman-Laverdure B, Rousseau C, Rousset D, Sabbah N, Sainte-Rose V, Schaub R, Sylla K, Tareau MA, Tertre V, Thorey C, Vialette V, Walter G, Zappa M, Djossou F, Vignier N. Panorama des pathologies infectieuses et non infectieuses de Guyane en 2022. *Med Trop Sante Int.* 2023 Feb 17;3(1):mts.v3i1.2023.308. doi: 10.48327/mts.v3i1.2023.308. eCollection 2023 Mar 31.

(ii) Publications internationales

CNR-METRO

- 1 Marquine S, Durand GA, Modenesi G, Khouadhria S, Piorkowski G, Badaut C, Canivez T, De Lamballerie X, Grard G, Klitting R. Sequence Data From a Travel-Associated Case of Microcephaly Highlight a Persisting Risk due to Zika Virus Circulation in Thailand. *J Infect Dis.* 2024 Feb 14;229(2):443-447. doi: 10.1093/infdis/jiad322. PMID: 37561039; PMCID: PMC10873171.
- 2 Klitting R, Piorkowski G, Rousset D, Cabié A, Frumence E, Lagrave A, Lavergne A, Enfissi A, Dos Santos G, Fagour L, Césaire R, Jaffar-Bandjee MC, Traversier N, Gérardin P, Amaral R, Fournier L, Leon L, Dorléans F, Vincent M; arbovirus genomics diagnostic laboratories working group; Fontaine A, Failloux AB, Ayhan N, Pezzi L, Grard G, Durand GA, de Lamballerie X; Arbovirus genomics diagnostic laboratories working group members. 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.* 2024 Mar;29(13):2400123. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.13.2400123. PMID: 38551097; PMCID: PMC10979529.
- 3 Hawa Sophia Bouzidi, Selin Sen, Géraldine Piorkowski, Laura Pezzi, Nazli Ayhan, Albin Fontaine, Thomas Canivez, Manon Gueulen, Rayane Amaral, Gilda Grard, Guillaume André Durand, Xavier de Lamballerie, Franck Touret, Raphaëlle Klitting. Genomic surveillance reveals that the dengue 2 virus lineage responsible for the 2023-2024 epidemic in the French Caribbean Islands is resistant to Mosnodenvir. doi: <https://doi.org/10.1101/2024.04.10.588695>
- 4 Clément Bigeard, Laura Pezzi, Raphaëlle Klitting, Nazli Ayhan, Grégory L'Ambert, Nicolas Gomez, Géraldine Piorkowski, Rayane Amaral, Guillaume André Durand, Katia Ramiara, Camille Migné, Gilda Grard, Thierry Touzet, Stéphan Zientara, Rémi Charrel, Gaëlle Gonzalez, Alexandre Duvignaud, Denis Malvy, Xavier de Lamballerie, Albin Fontaine. Molecular Xenomonitoring (MX) allows real-time surveillance of West Nile and Usutu virus in mosquito populations. doi: <https://doi.org/10.1101/2024.04.10.588707>
- 5 Rossillon L, Hayotte A, Caseris M, Grard G, Ntorkou A, Levy M. West Nile meningoencephalitis in infants: look for thalamic involvement. *Lancet Infect Dis.* 2024 Mar;24(3):e206. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00761-2. PMID: 38395591.
- 6 Le Hir A, Durand GA, Boucraut J, Garnier A, Mura M, Diamantis S, Carles M, Durand C, Schweitzer C, Audouard C, Decroix V, Boyez R, Van Dendriessche A, Leclancher A, Kaphan E, Barbat du Closel L, Verdon R, du Cheyron D, Vabret A, Vergnon D, Grard G, Charrel R, de Lamballerie X, Eldin C. 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.* 2024 Mar 1;31(2):taad160. doi: 10.1093/jtm/taad160. PMID: 38123499.

CNR LA-IPG

- 1 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>
- 2 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.
- 3 Thomas C, Michaud C, Gaillet M, Carrion-Nessi FS, Forero-Pena DA, Guimaraes Lacerda MV, Duchemin JB, Rodovalho S, Vreden S, Ramos R, Nacher M, Rousseau C, Sanna A, de Waard J, Tardieu L, Lekieffre M, Cossard Y, Djossou F, de Thoisy B, Blanchet D, Rousset D, Kallel H, Pujo H, Epelboin L. Yellow fever reemergence risk in the Guiana shield: a comprehensive review of cases between 1990 and 2022. *Current Tropical Medicine Reports*, 2023. <https://doi.org/10.1007/s40475-023-00289-6>
- 4 Bonifay T, Le Turnier P, Epelboin Y, Carvalho L, De Thoisy B, Djossou F, Duchemin JB, Dussart P, Enfissi A, Lavergne A, Mutricy R, Nacher M, Rabier S, Talaga S, Talarmin A, Rousset D, Epelboin L. Review on main arboviruses circulating on French Guiana, an ultra-peripheric European region in South America. *Viruses* 2023, 15, 1268. <https://doi.org/10.3390/v15061268>

- 5 Hozé N, Salje H, Rousset D, Fritzell C, Vanhomwegen J, Bailly S, Najm M, Enfissi A, Manuguerra JC, Flamand C, Cauchemez S. Author Correction Reconstructing Mayaro virus circulation in French Guiana shows frequent spillovers. Nat Commun. 2023 Feb 24;14(1):1064. doi: 10.1038/s41467-023-36843-z.

CNR LA-LR

- 1 Di Ascia L, **Jaffar-Bandjee MC**, Cresta MP, Vasseur AS, Lugagne N, Vacher-Coponat H, Gosset C. Dengue Virus in Kidney Allograft: Implications for Donor Screening and Viral Reservoir. Kidney Int Rep. 2023 Oct 17;9(1):186-190. doi: 10.1016/j.ekir.2023.10.012. eCollection 2024 Jan. PMID: 38312798
- 2 Vincent M, Paty MC, Gerardin P, Balleydier E, Etienne A, Daoudi J, Thouillot F, **Jaffar-Bandjee MC**; Clinical Investigation Team; Laboratory Network; study collaborators Réseau de médecins sentinelles de la Réunion; Menudier L. From dengue outbreaks to endemicity: Reunion Island, France, 2018 to 2021. Euro Surveill. 2023 Jul;28(29):2200769. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.29.2200769. PMID: 37470738
- 3 De Santis O, Pothin E, Bouscaren N, Irish SR, **Jaffar-Bandjee MC**, Menudier L, Ramis J, Schultz C, Lamaurt F, Wisniak A, Bertolotti A, Hafsia S, Dussart P, Baril L, Mavingui P, Flahault A. Investigation of Dengue Infection in Asymptomatic Individuals during a Recent Outbreak in La Réunion. Viruses. 2023 Mar 14;15(3):742. doi: 10.3390/v15030742. PMID: 36992451
- 4 En cours de reviewing : Dynamics of Emergence and Genetic Diversity of Dengue Virus in Reunion Island from 2012 to 2022. **Etienne Frumence**, David A Wilkinson, Raphaëlle Klitting, Muriel Vincent, Nicolas Mnemosyme, Gilda Grard, **Nicolas Traversier**, Ghislaine Li-Pat-Yuen, Diana Heaugwane, Laurent Souply, Claude Giry, Marie-Claire Paty, Louis Collet, Local Laboratory Network, Patrick Gerardin, Fabian Thouillot, Xavier De Lamballerie and **Marie-Christine Jaffar-Bandjee**

(iii) Communications nationales

CNR LA-IPG

1. D Rousset : Stratégie diagnostique biologique : Rappel des recommandations diagnostics NS1 et RT-PCR Recours aux TRODS en médecine de ville /services des urgences : Intérêts et limites - Comité technique inter régional de suivi de la dengue 2023 – Antilles 21.06.2023.
2. A Lagrave, S Tirera, A Enfissi, A Laverne, 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

CNR-METRO

Gilda Grard, Guillaume Durand, Marie-Claire Paty, Amandine Cochet, Anne Guinard, Grégory L'Ambert, Raphaëlle Klitting, Clémentine Calba, Florian Franke. Journées Nationale d'Infectiologie 2023 : Dengue autochtone en Europe.

(iv) Communications internationales NA

CNR-METRO

Conférences sur invitations

1. **Pezzi L.**, Bigeard C., **Klitting R.**, **Ayhan N.**, L'Ambert G., Gomez N., Piorkowski G., Amaral R., **Durand G.**, Ramiara K., Migné C., **Grard G.**, Touzet T., Zientara S., Charrel R., Gonzalez G., Duvignaud A., Malvy D., **de Lamballerie X.**, Fontaine A.; West Nile virus autochthonous cases in mainland France, 2023; 10th European Meeting on Viral Zoonoses, 23 – 26 September 2023 St Raphaël, France
2. **Klitting R.**, Solène Marquine S. , Piorkowski G., Canivez T., Geulen M., Cochet A., Noël H., Paty MC., **de Lamballerie X.**, **Grard G.**, **Durand G.** ; The molecular epidemiology of dengue virus autochthonous circulation in mainland France, 2022 ; 10th European Meeting on Viral Zoonoses, 23 – 26 September 2023 St Raphaël, France

CNR LA-IPG

1. A Lavergne: Utility of genomics in the evaluation of DENV RT-PCR assays – 1st meeting of the PAHO genomic surveillance regional networks (PAHOGGen) – Brasilia - PAHO 16.11.2023
2. A Lavergne: Understanding viral diseases emergence - Salzburg - Institut Pasteur Seminar in Global Health: Vector-Borne Diseases -September 3-9 - 2023)
3. A Lavergne : Stratégie diagnostique biologique en Guyane- CNR Cayenne. Réunion annuelle du réseau RELDA de labos arbovirus des Amériques. 17.08.2023
4. Les nouveautés du laboratoire du CNR Arbovirus Associé de la Réunion. **E Frumence**. Séminaire Dengue SPF 14 décembre 2023. Hôtel le Récif.

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

CNR-METRO

Collaboration avec l'ANSES

CNR-LA-LR

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

9. Programme d'activité pour les années suivantes

CNR-METRO

- Automatisation de la 2ème ligne de diagnostic par biologie moléculaire
- Développement de tests diagnostiques visant les Orthobunyavirus
- Poursuite du séquençage rétrospectif des souches virales en biobanque
- Développement de la séroneutralisation sur les IgM
- Développement des tests sérologiques en multiplexage

CNR-LA-IPG

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

CNR-LA-LR

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

N+2: Améliorer notre technique de séroneutralisation : prévoir une formation au CNR Coordonnateur de notre ingénieur Etienne Frumence

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

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

➤ Expertise

- en apportant son expertise aux laboratoires pour le diagnostic des arboviroses en France métropolitaine et dans les DOM ;
- en développant et/ou validant les techniques diagnostiques sérologiques et moléculaires des arboviroses ;
- en mettant les techniques à disposition des laboratoires désignés par les ARS ou intéressés
- en disposant d'une expertise pour l'identification et la caractérisation des souches d'arbovirus autochtones et importées en France métropolitaine et dans les DOM ;
- en apportant son expertise aux agences sanitaires et partenaires institutionnels (HCSP, en particulier le SECPROCH, ANSM, ABM, EFS, CTSA, SpFrance) dans le cadre de la sécurité portant sur les produits et éléments du corps humain, notamment :
- en contribuant au développement et à l'évaluation des méthodes diagnostiques et au contrôle qualité et en assurant une veille scientifique et technologique sur ces méthodes ;
- en participant aux groupes de travail de l'ANSM et aux expertises du HCSP et à toute étude réalisée dans le cadre de la sécurisation des éléments et produits issus du corps humain (étude épidémiologique, enquête de séroprévalence...);
- en contribuant à la collecte des échantillons et à la surveillance des donneurs de sang au niveau national voire européen,
- en collaboration avec les structures expertes en entomologie pour suivre la situation des vecteurs potentiels en métropole et dans les DOM ;
- en collaboration avec les structures en charge de la surveillance des arboviroses chez l'animal.

➤ Conseil

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

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

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

➤ Contribution à l'alerte

- en signalant à l'agence nationale de santé publique tout événement inhabituel ou émergent : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés, modification des formes cliniques (répartition, modification de leur expression clinique, formes inhabituelles), introduction de nouveaux arbovirus sur le territoire, etc... ;
- en contribuant à l'investigation des alertes et notamment des foyers de transmission autochtone

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

CNR-METRO

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 Venot *	BTS, en alternance	Technicien laboratoire	0,50	INSERM

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

* Personnel arrivé au laboratoire en novembre 2023.

CNR-LA-IPG

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	PhD	IP Paris	0.02
Labeau	Bhété	Technicienne (sérologie)	BTS	IP Guyane	0.9

Brémand	Laetitia	Technicienne (Biol mol)	BTS	IP Guyane	0.2
Ho	Valérie	Technicienne (jusque 02.2023)	BTS	IP Guyane	0.8
Lagrange	Alisé	Ingénieur (à partir de 03.2023)	Ingénieur	IP Guyane	0.8
Lichtenstein	Timothée	Ingénieur (à partir de 09.2023)	Ingénieur	IP Guyane	0.4
Tirera	Sourakhata	Bioinformaticien	PhD	IP Guyane	0.05
Briand	Dominique	Secrétaire		IP Guyane	0.4

Effectifs et ETP du CNR-LA-IPG en 2023

CNR-LA-LR

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-METRO

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.

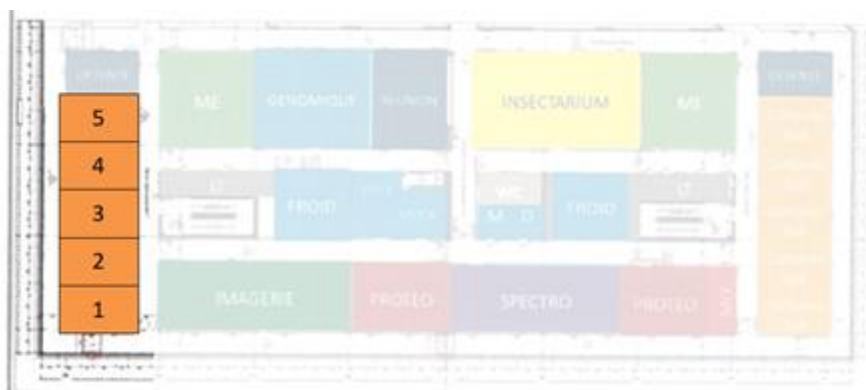
- IHU 1er étage



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
9. Laboratoire (74 m2) : automates d'amplification moléculaire dont ceux du CNR
10. Bureaux (40 m2)
11. Salle de détente

- 2eme étage IHU



Plan des locaux (2ème étage) du CNR-METRO

1. Laboratoire : biologie moléculaire (25 m2, préparation mix diagnostique, activité principale CNR)
2. Laboratoire : biologie moléculaire (25 m2, extraction des prélèvements diagnostique, activité principale CNR)
3. Laboratoire : biologie moléculaire (25 m2, préparation mix recherche)
4. Laboratoire : biologie moléculaire (25 m2, extraction des prélèvements recherche)
5. Laboratoire : biologie moléculaire (25 m2, séquençage ARN)

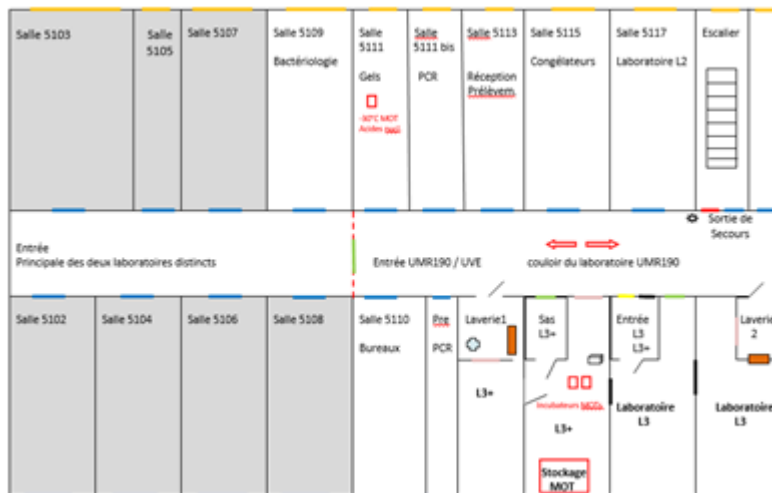
- 3eme étage IHU



Plan des locaux (3ème étage) du CNR-METRO

Un module autonome NSB3 de 36m2, contenant 6 box individualisés dont 2 dédiés au CNR-LC

■ Faculté de médecine



Boîtier digicode d'activation / inactivation de l'alarme du laboratoire avec sirènes internes et reports téléphoniques (2 zones distinctes avec une zone stockage MOT activée en permanence) ⚙️
 Porte sécurisée par un lecteur de carte ————
 Porte sécurisée par un digicode ————
 Porte sécurisée par un lecteur de carte/clefs et par un contacteur relié à l'alarme du laboratoire (dont congélateur MOT) ————
 Porte sécurisée par un digicode et par un contacteur relié à l'alarme du laboratoire ————
 Porte sortie de secours ou d'urgence sécurisée par un contacteur relié à l'alarme du laboratoire ————
 Détecteur volumétrique relié à l'alarme du laboratoire ————
 Fenêtre ————
 Oculus ————
 Autoclave double porte ————
 Coffre fort contenant la clé d'accès au congélateur MOT sécurisé ————
 Station Vigitemp de contrôle des températures des pièces et congélateurs avec alarmes sonores et téléphoniques ————
 Zone ZZR = Laboratoire L3+ exclusivement
 2 incubateurs dans le L3+ susceptibles de contenir des MOTs
 1 congélateur -20°C sécurisé dans la pièce 5111 susceptibles de contenir des MOTs non infectieux

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 I2A (n=1, 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 Luminox

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), QIASymphony (n=2), EZ1 (n=1)
- Thermocycleurs : CFX (n=8), QuantStudio 12 (n = 3)
- Automate intégré pour l'extraction et la détection des acides nucléiques : Panther Fusion (n=1)
- 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.

Chaîne 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

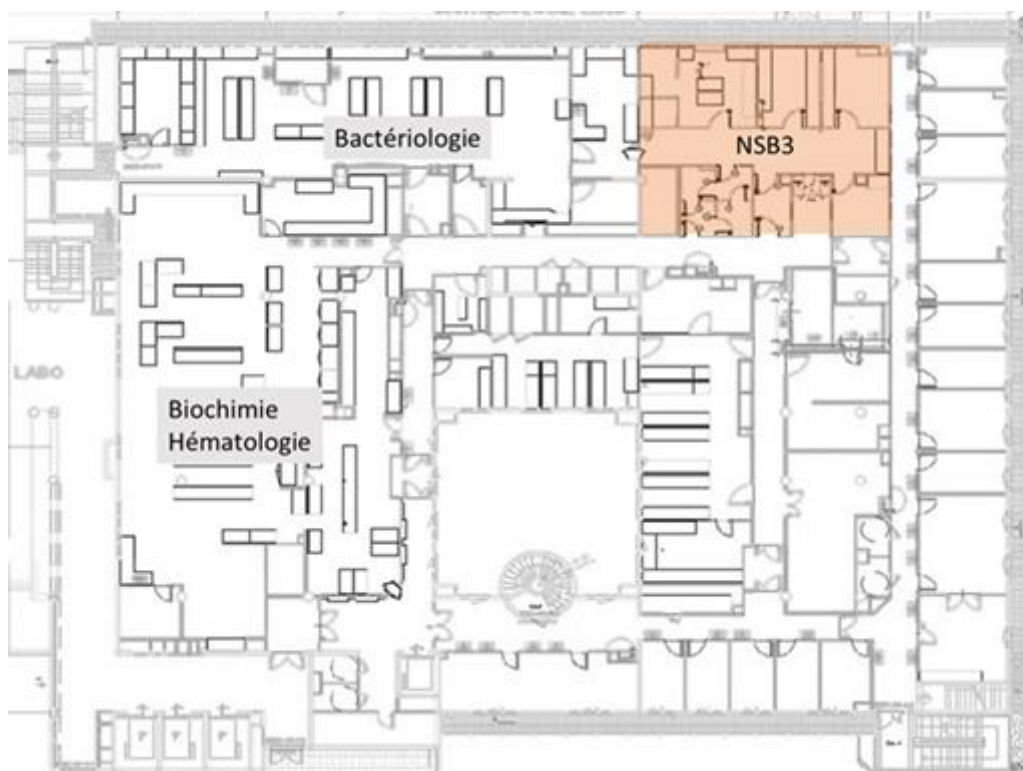
Rien de nouveau à signaler en 2023.

CNR-LA-LR

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

- BSC Niveau 0 : Laboratoire NSB3

Le laboratoire NSB3 d'une superficie de 180 m² permet de réaliser les activités de culture, de séroneutralisation du CNR. Sont aussi réalisées les activités de mycobactériologie et de Biotox.



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

Cette plateforme de 200 m³ est mutualisée avec l'activité de routine du laboratoire.



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

- 1 : salle réfrigérateurs, congélateurs
- 2 : réception échantillons
- 3 : stock température ambiante

- 5 : salle interprétation
- 7 : sérologie
- 9 : extraction
- 11 : thermocycleurs
- 12 : salle de pose
- 13 : salle blanche
- 14, 15 : bureaux biologistes

■ Bâtiment S : 3eme étage: plateforme de séquençage

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



1. Salle d'extraction, 9.45m²
2. Salle de RT, 9.5m²
3. Stock, 6.7m²
4. Salle de séquençage, 37.46m²
5. Bureau 1, 10.86m²
6. Bureau 2, 4.81m²

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-METRO

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

FAMILLE	GENRE	VIRUS (NOMS VERNACULAIRES)	No. DE SOUCHE S IRBA	No. DE SOUCHE S UVE	ANTIGENE S	IMMUN-SERUMS
FLAVIVIRIDAE	ORTHOFLAVIVIRUS	DENGUE 1	150	39	OUI	OUI
		DENGUE 2	80	35	OUI	OUI
		DENGUE 3	60	21	OUI	OUI
		DENGUE 4	23	11	OUI	OUI
		WEST NILE	21	5	OUI	OUI
		USUTU	1	1	OUI	OUI
		ENCEPHALITE DE ST LOUIS	3	1	OUI	OUI
		ENCEPHALITE JAPONAISE	8	2	OUI	OUI
		FIEVRE JAUNE	15	9	OUI	OUI
		WESSELSBRON	1	1	OUI	OUI
		TBE	2	6	OUI	OUI
		NTAYA	3	1	NON	NON
		SABOYA	2	1	NON	NON
		ZIKA	7	12	OUI	OUI
		MURRAY VALLEY	2	1	NON	?
		RSSE (RUSSIAN SPRING SUMMER ENCEPHALITIS)	3		NON	?
		ILHEUS	1	1	NON	?
		ROCIO	1	1	NON	NON
TOGAVIRIDAE	ALPHAVIRUS	CHIKUNGUNYA	120	43	OUI	OUI
		O'NYONG NYONG	1	1	OUI	NON

		MAYARO	4	1	OUI	OUI
		SEMLIKI FOREST	4	2	OUI	NON
		TONATE	2		OUI	OUI
		SINDBIS	21	2	OUI	OUI
		VEE	14	2	OUI	NON
		EEE	1		NON	NON
		WEE	1		NON	NON
		GETAH	1	1	NON	?
		BARMAH FOREST	1	1	NON	?
		PIXUNA	1		NON	?
		BABANKI	1		NON	?
		OCKELBO	1		NON	?
		ROSS RIVER	1	1	OUI	OUI
PERIBUNYAVIRIDAE	ORTHOBUNYA VIRUS	BUNYAMWERA	15		OUI	OUI
		ILESHA	5		NON	NON
		BWAMBA	3		NON	NON
		INGWAVUMA	1		NON	NON
		LUMBO	1		NON	NON
		NYANDO	1		NON	NON
		BAHIG	1		NON	NON
		OROPOUCHE	1		NON	?
		SCHMALLEMBERG	1		NON	?
		TAHYNA	10		OUI	OUI
NAIROVIRIDAE	ORTHONAIRO VIRUS	DUGBE	2		OUI	OUI
		ERVE	1		NON	NON
PHENUIVIRIDAE	PHLEBOVIRUS	TOSCANA	19	15	OUI	OUI
		SANDFLY NAPLES	2		OUI	NON
		SANDFLY SICILIAN	7		OUI	OUI
		CHAGRES	1		NON	?
		PUNTA TORO	1		NON	?
		KARIMABAD	1		NON	?
		ICOARACI	1		NON	?
		FIEVRE DE LA VALLEE DU RIFT	6		OUI	OUI

Collection de souches, antigènes ou immuns-sérums au CNR-METRO

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

Nous avons le projet de mettre à disposition nos isolats de la communauté scientifique via le Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHU (convention en cours). 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 4000 échantillons.

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

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

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 :

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

En juin 2023, le laboratoire a évolué sur le plan technique, avec l'ajout à notre portée d'accréditation de :

- sérologie chikungunya par technique Euroimmun, sur plasma et sérum
- sérologie dengue par technique Euroimmun, sur plasma et sérum
- RT-PCR chikungunya (plasma et sérum) sur amplificateur CFX (extraction EZ2)
- RT-PCR dengue (plasma et sérum) sur amplificateur CFX (extraction EZ2)
- RT-PCR TBEV (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR chikungunya (plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR dengue (plasma, sérum, urine, écouvillon pharyngé) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR fièvre jaune (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR Zika (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)
- RT-PCR Toscana (plasma, sérum, urine) sur automate Panther Fusion (Hologic)

Par ailleurs, en 2023 le laboratoire a migré vers la norme ISO 15189 version 2022.

L'audit de renouvellement et de transition vers la nouvelle version de la norme a eu lieu en mars 2024. Cet audit (rapport d'évaluation n°373822) n'a soulevé aucun écart majeur, et 3 écarts mineurs :

- 1- Non complétude du dossier de validation de méthode pour l'analyse sérologique Euroimmun, notamment sur les tests miroir sur les deux automates
- 2- Absence d'une procédure de gestion des incertitudes de mesures pour les tests ELISA
- 3- Constat d'une pipette utilisée pour la sérologie manuelle n'ayant pas été vérifiée depuis 2020

Le laboratoire est également accrédité selon la norme ISO 9001.

CNR-LA-IPG

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

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

La prochaine évaluation (surveillance) par le COFRAC est prévue en février 2025.

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

CNR-LA-LR

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

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

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

L'envoi des données de séquençage dans le SIL par une connexion directe est en cours de finalisation, ceci afin de sécuriser la saisie des données et harmoniser le rendu des séquençages sur nos CR de laboratoires.

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. Un redesign de la pcr triplex maison est en cours afin d'améliorer la sensibilité de détection de la dengue car la comparaison de notre technique actuelle à certest n'a pas permis une amélioration de la sensibilité.

De manière régulière, le laboratoire participe à l'eeq pcr zika QCMD (2017 à 2020, 2023) ; non évalué pendant période covid. En 2023, 100% des eeq zika étaient satisfaisants.

Les sérologies dengue sont évaluées à l'aide de l'eeq labquality depuis 2017. En 2021, 2022 et 2023, les résultats étaient satisfaisants 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.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

CNR-METRO

En sérologie :

- ELISA “in house” sur antigène inactivé produit en laboratoire NSB3 : IgM (MAC-ELISA) et IgG (ELISA indirect)
- ELISA automatisé sur automate EuroImmun I2P et EuroLabWorkstation
- Séroneutralisation
- Détection de l'antigène NS1 dengue circulant

En Biologie moléculaire :

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

Autre :

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

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)
- Titrage TCID50
- Production et validation de réactifs sérologiques (antigènes, ascites hyperimmunes)

Tableau . 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

En sérologie :

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

En biologie moléculaire :

- Techniques RT-PCR "maison" simplex (techniques transférées du CNR-LC) :

Fièvre de la Vallée du Rift,

West-Nile,

Fièvre Jaune,

Encéphalite Japonaise,

Virus de l'encéphalite à tique

- Kit Altona RT-PCR Zika
 - Multiplex Chik/Dengue/Leptospirose développée localement (Giry C et al BMC Microbiol. 2017 May 3;17(1):105) Accrédité
 - RT PCR de typage des dengues 1, 2, 3 et 4.
 - Techniques “maison” multiplex développées localement :
Pan Flavivirus,
Pan Alphavirus (Giry C et al BMC Microbiol. 2017 Jul 24;17)
 - Séquençage de la dengue, du zika et du chikungunya par technique Nanopore
- Virologie :
- Production d'isolats de virus sur lignées cellulaires Vero, C6/36

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR