

(EXTRAIT) Candidature

CNR ARBOVIRUS

Mandat 2023-2027

Ce document est un extrait du dossier de candidature pour le renouvellement du mandat de CNR. Ce document présente les éléments d'activités durant la période du mandat, incluant l'année 2021.

3. Activités scientifiques et techniques - bilan 2017-2021

3.1. Activités d'expertise

3.1.1. CNR IRBA

A. Impact de la crise COVID-19 sur l'activité du laboratoire

L'activité du laboratoire a diminué (dans le champ de l'arbovirologie) durant la crise COVID-19. Au début de la crise, dans un esprit de résilience, le laboratoire a adapté ses outils pour le diagnostic de l'infection par le SARS-CoV-2. Il a notamment adapté sa séroneutralisation afin de proposer un diagnostic spécifique. Ainsi, il a participé au suivi et au diagnostic dans deux EHPAD, à l'investigation d'une épidémie au sein d'une caserne de Marins Pompiers (Durand *et al*, Eurosurveillance 2020), à la qualification de plasma thérapeutiques (en collaboration avec l'EFS et le CTSA) (Conan PL, Transfusion Medicine and Hemotherapy 2020). Le laboratoire a également participé au développement et à l'évaluation d'une RT-PCR Duo SARS-CoV-2 (Pezzi L *et al.*, Viruses 2020).

Par ailleurs l'unité de recherche (UVE) a eu une activité scientifique et de service particulièrement intense (elle a par exemple traité plusieurs centaines de milliers de sérums de diverses études de séroprévalence et d'évaluation des vaccins et des anticorps thérapeutiques, par des techniques ELISA et de séroneutralisation des différents variants grâce à la mise en place d'une très importante filière de séroneutralisation automatisée).

B. Bilan général de l'activité sur la période

Durant le mandat, le CNR a reçu en moyenne 3800 échantillons par an, avec une variation saisonnière (Figure 14). Le maximum d'activité était entre mai et novembre.

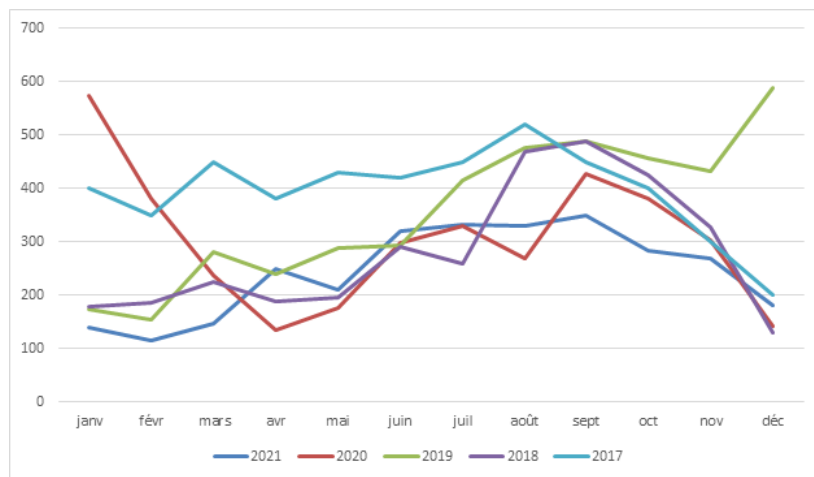


Figure 14. Evolution du nombre de prélèvements, par mois de l'année.

Les prélèvements reçus au CNR provenaient essentiellement de de centres hospitaliers (CHU, CH, HIA) (72%) et de laboratoires privés (LABM, 18%) (Figure 15). La part de prélèvements reçus en provenance de laboratoire privé a été supérieure à celle du précédent mandat (5%). Dans le cas des centres hospitaliers, le CNR était le plus souvent sollicité en deuxième ligne : confirmation ou infirmation d'un résultat positif, ou investigation arbovirale plus poussée dans le cadre d'une recherche étiologique étendue. Dans le cas des LABM, le CNR était le plus souvent sollicité pour contrôler un résultat positif. En effet, les kits commerciaux manquent de spécificité, et des faux positifs IgM sont assez souvent retrouvés. En moyenne, et tous expéditeurs confondus, 3% des sérologies du CNR concernent la confirmation d'un positif en laboratoire de première ligne. Parmi ces 3%, le CNR infirme le diagnostic dans 90% des cas. Les faux positifs en sérologie les plus souvent retrouvés sont des IgM ou des IgG positifs pour les virus Zika, chikungunya, et West Nile.

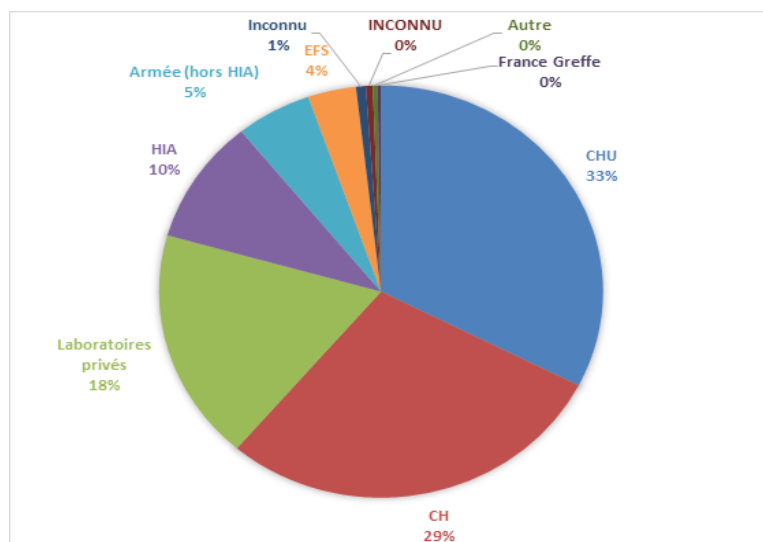


Figure 15. Lieu de prélèvement des échantillons reçus.

Le tableau 8 résume l'activité du laboratoire sur la période de 2017 à 2021, pour chaque type d'analyse. L'année 2017 étant marquée par la fin de l'épidémie de Zika dans les départements Français d'Amérique, un nombre plus élevé de prélèvements a été analysé. Inversement, les années 2020 et 2021 ont été marquées par les restrictions de déplacement en rapport avec la pandémie COVID-19, et

donc une diminution de notre activité. Le taux de positivité (IgM positif, ou IgM+IgG positifs) en sérologie était en moyenne de 2%. Cette activité de sérologie, basée sur une technique ELISA « maison » sur virus entier inactivé, a nécessité la production de 70 lots d'antigènes en laboratoire NSB3. Pour tous les prélèvements d'intérêt présentant une sérologie positive mais ininterprétable à cause des sérocroisements, une séroneutralisation était réalisée au laboratoire NSB3. Entre 10% et 1/3 des séroneutralisations montraient une présence d'anticorps neutralisant le virus testé.

Tableau 8. Bilan général de l'activité du CNR durant le mandat 2017-2021.

	2017		2018		2019		2020		2021	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Prélèvements										
Total prélèvements recus	4721	100	3449	100	4286	100	3647	100	2923	100
Total prélèvements analysés	4280	90,7	3196	92,7	4019	93,8	3369	92,4	2760	94,4
Analyses										
Sérologies (IgM et IgG)	11572		10948		13968		10889		11726	
IgM + isolés	64	0,6	103	0,9	145	1,04	203	1,9	48	0,4
IgG + isolés	1383	12,0	676	6,2	1072	7,67	831	7,6	826	7,0
IgM+ IgG+	94	0,8	112	1,0	200	1,43	241	2,2	84	0,7
RT-PCR	7993		8819		12738		11472		9706	
Positifs	98	1,2	159	1,8	534	4,19	702	6,1	119	1,2
Séroneutralisations	1196		185		204		177		136	
Positifs	393	32,9	35	18,9	22	10,8	94	53,1	67	49,3
Culture virale *	41		36		133		123		137	
Positifs	12	29,3	15	41,7	40	30,1	53	43,1	21	15,3

* changement de la stratégie du CNR en 2019 : avant l'isolement était fait au cas par cas à la demande des cadres en fonction du contexte ; dès 2019, isolement systématique des prélèvements précoces pour les patients au retour d'une zone d'endémie.

Le diagnostic direct par RT-qPCR était réalisé pour les prélèvements précoces (≤ 7 jours) avec un panel de cibles dépendant de la région géographique d'acquisition suspectée (France métropolitaine sud ou nord, Afrique, USA, Amérique centrale et du sud, Pacifique sud, Asie, Caraïbes). En PCR, entre 1 et 5% des prélèvements étaient positifs. Le tableau 9 montre le nombre de génomes positifs en RT-PCR, par région géographique, et par année (séparées par un tiret).

Tableau 9. Nombres de prélèvements positifs en PCR en fonction du lieu de séjour du patient. Les tirets séparent les années (2017 – 2018 – 2019 – 2020 – 2021).

	DENV*	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	CHIKV	TOSV	RVFV	ZIKV	WNV	YFV	TBEV
Afrique												
Angola			0-0-0-0-1	0-0-0-0-1		0-0-0-4-0						
Bénin				1-0-0-0-0								
Burkina Faso		2-0-2-0-0	0-0-2-0-1	1-0-0-0-0								

Cameroun		0-2-0-0-0										
Comores		0-0-1-0-0										
Congo		2-0-1-0-0	0-0-1-0-0	1-0-0-0-0		0-3-11-0-0						
Côte d'Ivoire	0-0-0-0-1	1-1-4-0-0	8-0-0-0-0	1-0-3-0-5					0-1-0-0-0			
Djibouti	1-0-1-0-0	0-0-32-71-20	0-0-2-0-19	0-0-0-1-0		0-0-52-94-1						
Ethiopie			1-0-1-0-0									
Gabon			0-0-1-0-0									
Kenya			0-0-2-0-0			0-1-0-0-0						
Madère		0-0-1-0-0										
Mali		1-0-0-0-0	1-0-0-0-0									
Mauritanie			1-1-0-0-0									
Mayotte		0-0-3-23-0	1-0-0-2-0					0-0-1-0-0				
Niger		0-1-0-0-0							0-1-0-0-0			
Sénégal		0-0-3-0-0	0-1-1-0-0	0-0-0-1-1								
Tchad	0-0-2-0-0					0-0-0-2-3						
Togo			0-0-2-0-0									
Tunisie									0-1-0-0-0			
total	5	171	49	16	0	171	0	1	1	2	0	0
Amérique												
Brésil		0-0-1-0-0	0-0-1-0-0			0-0-2-0-0					0-7-0-0-0	
Colombie		0-0-3-0-0										
Costa Rica		0-0-1-0-0										
Floride		0-0-0-2-0										
Guyane		0-0-3-11-0	0-0-4-1-1								0-2-0-0-0	
Mexique		0-1-3-0-0	0-0-3-0-0									
Paraguay	0-0-0-1-0											
Perou		0-0-1-0-0										
Venezuela	0-1-0-0-0											
total	2	26	10	0	0	2	0	0	0	0	9	0
Asie												
Bali			0-0-0-1-0	0-1-0-0-0	0-0-2-0-0							
Bengladesh			0-1-0-0-0									
Birmanie		1-0-0-0-0		0-2-0-1-0	0-0-2-0-0	0-0-1-0-0						
Cambodge		1-4-15-1-0	0-1-2-0-0									
Inde	1-0-0-0-0	1-1-1-0-0	1-1-2-0-0	2-4-3-0-0		0-0-1-1-0						
Indonésie	0-0-1-0-0	1-0-0-0-0	0-0-1-0-0	0-1-0-0-0								
Malaisie			0-1-0-0-0									
Népal	0-0-1-0-0											
Pakistan			0-0-1-0-0									
Philippines			0-2-1-0-0	2-1-2-0-0								
Sri Lanka		1-0-0-0-0	3-3-1-0-0	0-0-1-0-0								
Singapour				1-0-0-0-0								
Thaïlande	0-2-5-0-0	5-10-15-2-0	8-7-27-0-0	4-0-0-0-0	0-0-3-0-0	0-2-0-0-0			0-0-1-0-0			
Vietnam		1-4-1-0-0	0-1-4-0-0									
total	10	65	69	25	7	5	0	0	1	0	0	0

Caraïbes												
Antilles	0-0-0-1-0	0-0-0-1-0	0-0-0-26-0	0-0-0-4-0								
Cuba	0-1-0-0-0	0-0-1-0-0	1-0-1-0-0					2-0-0-0-0				
Guadeloupe	0-0-1-3-0	0-3-2-8-6	0-0-48-43-0	0-0-1-9-0								
Haïti		0-3-2-0-0										
Jamaïque				0-0-4-0-0								
Martinique	0-0-0-1-0	0-0-1-3-0	0-0-7-8-0	0-0-6-76-2								
République Dominicaine		0-0-2-1-0						1-0-0-0-0	0-1-0-0-0			
Saint Barthelemy		0-0-0-8-1	0-0-0-3-0									
Saint Martin	0-0-0-3-0	0-7-63-149-0	0-0-1-17-0	0-0-7-21-0								
total	10	261	155	130	0	0	0	0	3	1	0	0
Europe												
France	0-0-1-0-0	2-10-1-7-2	1-2-11-4-7	0-0-0-10-0		2-0-0-0-0	0-2-1-0-0	3-0-0-0-0	0-13-0-0-0	0-5-0-0-0	0-3-0-1-2	
Italie							0-0-1-1-0					
total	1	22	25	10	0	2	3	0	3	13	5	6
Moyen Orient												
Arabie Saoudite				0-2-0-0-0								
total	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Océan Indien												
La Réunion	1-0-3-0-0	0-0-8-1-23	1-9-22-3-0									
Maldives		0-0-0-1-0	0-1-0-0-0	0-0-2-0-0								
Seychelles			0-1-1-0-0									
total	4	32	38	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Pacifique												
Polynésie	2-0-0-0-0	5-7-4-0-0	0-0-15-0-0						1-0-0-0-0			
Nouvelle Calédonie		1-0-0-0-0	2-2-0-0-0	2-0-0-0-0								
total	2	17	19	2	0	0	0	0	1	0	0	0

Pour les échantillons présentant une PCR positive au retour d'une région pour laquelle les données de circulation virale sont faibles ou inexistantes, un isolement viral sur cellules C6/36 et Véro était tenté. De plus, à partir de 2019, le CNR a mis en culture tous les prélèvements précoces, c'est-à-dire prélevés entre J+0 et J+3 après la date de début des signes pour les patients au retour d'une zone d'endémie. Le tableau 10 montre les souches isolées au décours du mandat, par région géographique. Au total, nous avons isolé 173 souches durant ce mandat. Ainsi, nous avons isolé une souche dengue 4 du Paraguay (numéro d'accèsion NCBI : ON211314), ainsi qu'un Toscana autochtone (Aix en Provence).

Tableau 10. Nombres de souches isolées en fonction du lieu de séjour du patient.

	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	CHIKV	TOSV
Afrique						
Burkina Faso	2	2				
Cameroun	1					
Comores	1					

Congo	1		1		2	
Côte d'Ivoire	4	4	5			
Djibouti	3	2			5	
Mali		1				
Mauritanie		2				
Mayotte	5					
Togo		1	1			
<i>total</i>	17	12	7	0	7	0
Amérique						
Brésil					1	
Floride	2					
Guyane	3	1				
Mexique	2					
Paraguay				1		
<i>total</i>	7	1	0	1	1	0
Asie						
Bali		1				
Birmanie			1			
Cambodge	2	2				
Inde	1	1	2		1	
Indonésie	1					
Philippines			1			
Sri Lanka		1				
Singapour	1		1			
Thaïlande	2	3	3		2	
<i>total</i>	7	8	8	0	3	0
Caraïbes						
Antilles	1		1			
Cuba	1	1				
Guadeloupe	4	9	9			
Haïti	2					
Martinique	1	3	13			
République Dominicaine	3					
Saint Barthelemy	1					
Saint Martin	14	1	2			
<i>total</i>	27	14	25	0	0	0
France						
Aix en Provence						1
<i>total</i>	0	0	0	0	0	1
Océan Indien						
La Réunion	17	5				
Maldives	1					
Seychelles		1				
<i>total</i>	18	6	0	0	0	0
Pacifique						

Polynésie	3					
Nouvelle Calédonie		1				
<i>total</i>	3	1	0	0	0	0

La mise en culture systématique des prélèvements précoces, réalisée extemporanément à réception de l'échantillon, n'a pas montré de bénéfice en termes de rattrapage de PCR négatives. En revanche, 7% (17/237) des échantillons mis en culture ont présentés des effets cytopathiques, malgré des RT-PCR négatives à la fois sur l'échantillon biologique à l'étape diagnostique (PCRs du flux diagnostic) et sur le surnageant de culture (PCRs du flux diagnostic, plus recherche étendue en fonction de l'origine géographique : PCR pan-flavivirus, PCR ONNV, ...). Ces échantillons seront investigués par séquençage métagénomique.

Le CNR coordonnateur est souvent en première ligne pour un certain nombre de qualifications en vue de greffe de tissu, d'organes ou de cellules. En premier lieu, le CNR assure la qualification sur le plan arboviral pour tout donneur au retour d'une zone d'endémie. Concernant les arboviroses retrouvées en métropole et à risque de transmission sanguine ou par la greffe (virus West Nile et virus de l'encéphalite à tique), le Haut Conseil de santé publique annonce des mesures de prévention tous les ans. Alors que l'EFS assure la qualification WNV des produits sanguins labiles, le CNR est souvent en première ligne pour la qualification des organes et tissus par RT-PCR et sérologie. A la suite du cluster de TBEV dans l'Ain, le HSCP a émis un avis le 23 juillet 2020, recommandant notamment la qualification des donneurs en cas de notion de piqûre de tique ou d'exposition à une zone à risque. Le CNR a ainsi vu son activité de qualification TBEV augmenter considérablement (Figure 16, en lien notamment avec les donneurs de tissus résidant en Europe centrale).

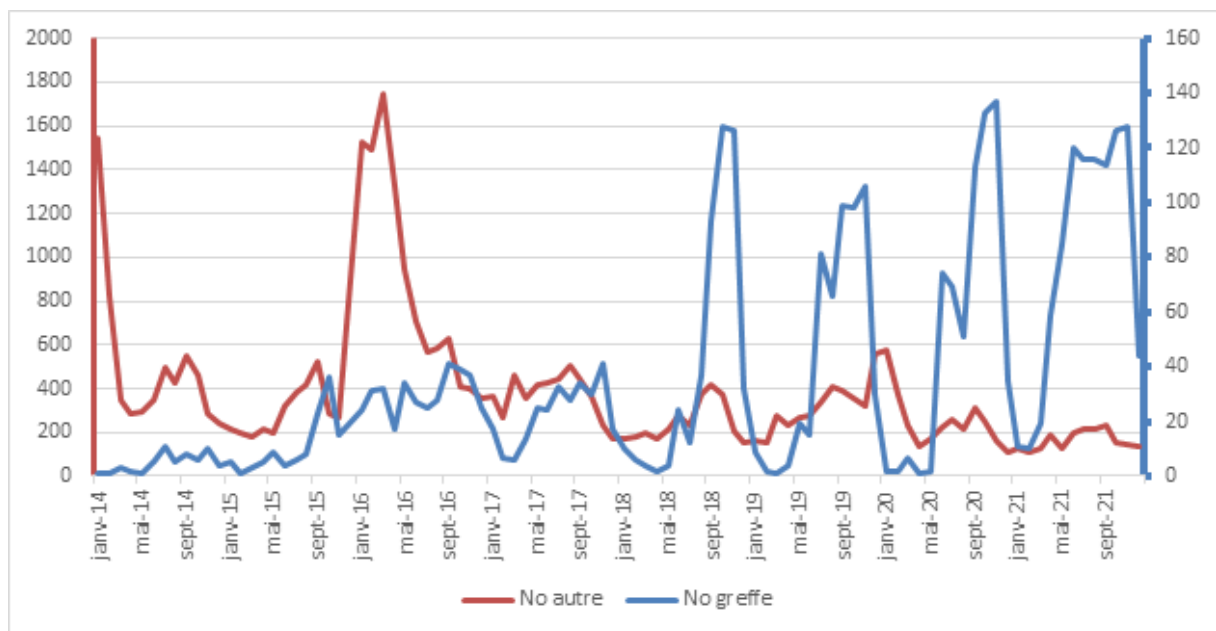


Figure 16. Nombre de prélèvements mensuels reçus dans le cadre d'une qualification de greffe (bleu) et autre que greffe (rouge).

C. Travaux d'évaluation de kits

- Évaluation des TROD Biosynex pour la détection d'une infection récente par le virus de la dengue en 2019, en collaboration avec le CNR associé de Saint Denis.
- 2021 : évaluation du kit sérologique EuroImmun en IgG pour les virus de la dengue, du West Nile et du Chikungunya sur la cohorte Unono Wa Maore.
- 2022 (en cours au moment de la rédaction de ce document) : évaluation des kits de sérologie des arbovirus sur automate Virclia Vircell (KeyoFlab), et PCR de Certest (gamme Viasure).

Le laboratoire coordonnateur a réalisé en 2022 une enquête déclarative auprès de son réseau de laboratoire afin de cartographier les kits et méthodes les plus utilisés pour le diagnostic des arbovirus. Sept CHU ont répondu (Hôpitaux Civils de Lyon, CHU de Bordeaux, CHU Avicenne, CHU de Montpellier, de Grenoble, de Dijon et de Nîmes) et les deux plus grands groupes de laboratoires privés (Cerba et Biomnis). Ce travail a montré que toutes les sérologies arbovirus étaient réalisées avec soit le kit Virclia Vircell, soit le kit EuroImmun. De même, en PCR, la majorité des laboratoires ayant participé à l'enquête utilisent le kit Altona.

D. Activité de séquençage

Lors du mandant 2017-2021, le CNR s'est appuyé sur les capacités de séquençage de l'UMR des virus émergents. Au total, une centaine de séquences complètes ont été produites, incluant notamment des souches de virus chikungunya de Djibouti (Fourié T, *et al.*, Emerg Infect Dis 2020 ; Fourié T, *et al.*, Plos Neglected Tropical Diseases 2021), de cas de dengue autochtones, de La Réunion et des antilles. Des séquences partielles ont été également obtenues (cas autochtone de Zika).

3.1.2. CNR-LA IPG

Evolutions des techniques

Le mandat 2017-2021, aura permis une large révision des techniques moléculaires du CNR-LA-IPG, avec le remplacement des anciennes techniques de RT-PCR classiques, nichées ou Sybergreen par des techniques de qRT-PCR avec sondes Taqman, le plus souvent sous des formats multiplexés.

Ont ainsi été mises en place :

- qRT-PCR pour la détection du virus Fièvre Jaune (YFV)
- qRT-PCR multiplex pour la détection des virus Oropouche et Mayaro
- qRT-PCR multiplex pour la détection des virus West Nile (WNV) et Encephalite Japonaise (JEV)
- qRT-PCR multiplex pour la détection des virus Ilhéus et Encéphalite de Saint-Louis (ESLV)
- qRT-PCR pour la détection des virus Tonate, Cabassou et Mucambo
- qRT-PCR pour le typage des virus Dengue 1 à 4 (2x2)

Ont été accréditées :

- qRT-PCR multiplex pour la détection des virus dengue et chikungunya en 2018
- qRT-PCR pour la détection du virus Zika en 2021

Parallèlement, sur le plan sérologique, des techniques de détection des anticorps neutralisations par technique de microneutralisation en plaque 96 puits ont été mises en place pour les virus suivants : Zika, Mayaro, Chikungunya, Dengue 1 à 4, Fièvre jaune et Oropouche.

Le mandat 2017-2021 aura été l'occasion pour le CNR d'élargir ses capacités de séquençage à travers l'acquisition d'un séquenceur Minlon (Oxford NanoporeTechnology) permettant un séquençage NGS en Guyane. Si du fait de l'actualité, ce séquenceur est principalement utilisé dans le cadre de la surveillance des variants SARS-CoV-2 circulants en Guyane, de premiers séquençages d'arbovirus ont également été réalisés (séquençage Mayaro).

Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Pour le mandat 2017-2021, les demandes de transfert de techniques reçues par le CNR-LA-IPG ont été limitées au transfert des techniques moléculaires de détection et typage de la dengue ainsi que des techniques de détection de la Fièvre jaune à l'IP Guadeloupe.

Collections de matériel biologique

La collection de souches virales du CNR-LA-IPG, s'est enrichie au cours de ce mandat de 28 isolats. Malgré notre souhait de renforcer les tentatives d'isolement viral par une mise en culture plus systématique des prélèvements précoces, cela n'a pas été possible du fait de la faiblesse des effectifs combinée à la charge de travail. Les isolements ont principalement été réalisés à partir d'échantillons détectés positifs en PCR et en priorisant les virus les moins présents dans la collection.

C'est ainsi qu'ont été obtenues :

- 2 souches de virus Fièvre Jaune (YFV WT) : 1 de 2018 et 1 de 2020
- 11 souches de virus Mayaro : 3 de 2017, 1 de 2018, 1 de 2019 et 6 de 2020
- 5 souches de virus Oropouche : épidémie de Saül en 2020
- 10 souches de virus Dengue : 1 DEN1 de 2019 (Martinique) et 2 DEN2 de 2019 (Guyane), et 7 DEN3 de 2020 (1 de Guadeloupe et 6 de Martinique)

Parallèlement le CNR-LA-IPG a répondu aux demandes de fournitures de ressources biologiques de différentes origines :

- Fourniture de sérums NS1 dengue positifs au CH de Cayenne (témoins positifs pour les TROD distribués aux Centres Délocalisés de Prévention et de Soins)
- Fourniture de sérums caractérisés Mayaro envoyés au laboratoire CERBA à Paris (sérums positifs en sérologie Mayaro et négatifs en neutralisation pour le virus chikungunya provenant de patients avec antécédent d'infection confirmée par PCR).
- Envoi d'un isolat de virus Zika à l'Institut Cochin - unité Inserm 1016, pour l'étude de l'effet de l'infection Zika sur des neurones murins.
- Envoi d'un isolat de virus Fièvre jaune à l'unité de virologie structurale à l'IP Paris, pour l'étude de l'activité neutralisante d'anticorps humains anti fièvre jaune.
- Envoi d'un isolat de virus Oropouche à l'Unité environnement et risques infectieux – IP Paris et à l'UMR MIVEGEC–IRD.

D'autres demandes ont été reçues mais compte tenu de leur complexité sur le plan réglementaire et logistique, les envois de souches virales s'avèrent très consommateurs de temps pour le CNR-LA-IPG et toutes les demandes n'ont pas encore pu aboutir.

A. Impact de la crise COVID

Le mandat 2017-2021 aura été indirectement marqué en 2020-2021 par une situation épidémiologique exceptionnelle liée à l'émergence du SARS-CoV-2, avec pour conséquences, en Guyane :

- a. une large désorganisation des activités de diagnostic et de surveillance autres que liées au COVID
- b. une surcharge de travail des personnels du laboratoire également impliqués dans la très forte activité du CNR-LA-IPG des virus des infections respiratoires dont la grippe
- c. mais aussi des problèmes logistiques (liés notamment aux confinements particulièrement prolongés en Guyane et/ou à de grosses difficultés dans l’approvisionnement en réactifs et consommables)

Cette situation exceptionnelle est venue singulièrement perturber la surveillance des arbovirus et notamment la surveillance de la réémergence de la Dengue dans les TFA avec une nouvelle épidémie observée en 2020, soit 7 ans après la précédente épidémie. Cette situation a d’ailleurs conduit en 2020, en pleine co-circulation de Dengue et de SARS-CoV-2, certains laboratoires d’analyses médicales privés de l’île de Cayenne à adresser au CNR-LA-IPG leurs demandes de diagnostic de Dengue, afin d’améliorer les délais de rendu de résultats d’analyses autrement envoyées aux laboratoires spécialisés en métropole avec des délais de rendu peu compatibles avec les interventions de Lutte Anti Vectorielle.

B. Bilan de l’activité globale

Le bilan de l’activité du CNR-LA IPG pour le mandat 2017-2021, résumé ci-dessous (cf Tableau 11 et Figure 19) montre :

- Au cours de l’année 2017, une diminution du nombre de prélèvements reçus et des analyses sérologiques réalisées, associée à la baisse de la demande de surveillance du Zika chez les femmes enceintes, permettant un retour à des niveaux d’activités habituellement observés en période inter-épidémique.
- En 2020, l’activité est repartie à la hausse du fait de l’épidémie de Dengue dans les TFA, avec une nette augmentation de l’activité moléculaire, liée à la fois aux PCR de détection et de typage Dengue mais aussi à la diversification des arbovirus recherchés. Des PCR de détection d’arbovirus autres que les PCR Dengue, Chikungunya et ZIKA ont en effet été réalisées sur un échantillonnage de prélèvements précoces négatifs pour la Dengue. Il est intéressant de noter que cette augmentation d’activité moléculaire associée à la diversification des arbovirus recherchés par PCR a permis une diversification des virus circulants détectés (5 espèces virales différentes détectées en 2020 contre 1 à 3 espèces les autres années du mandat) et cela malgré une activité très perturbée par l’émergence du SARS-CoV-2.

Tableau 11. Bilan du nombre de prélèvements reçus, du nombre d’analyses sérologiques et moléculaires réalisées par le CNR-LA IPG ainsi que le bilan des détections et isollements de virus sur le mandat 2017-2021.

	2017	2018	2019	2020	2021
Nombre de prélèvements	10896	4809	3963	6320	3656
Nombre d’analyses sérologiques	17113	11990	9655	13877	10530

Nombre d'analyses PCR	2456	1312	3533	11603	4991
Total analyses	19569	13302	13188	25480	15521
% Sérologie	87%	90%	73%	54%	68%
% PCR	13%	10%	27%	46%	32%
Autres analyses IgA et Séroneutralisation	79 MNT Zika	48 IgA (DEN et ZIKV) + 49 MNT CHIK et 79 MNT MAY étude séroprévalence	6 MNT Zika + 1057 MNT YFV étude séroprévalence	400 MNT DEN (1 à 4) étude séroprévalence	35 MNT Oropouche
PCR positives	4 ZIK 1 YF	1 CHIK (Bresil) 2 MAY 1 YF	240 DEN 64 D1, 143 D2, 33 D3 1 MAY 3 TON	1916 DEN 1334 D1, 398 D2, 184 D3 14 MAY 11 ORO 1 TON 2 YF	467 DEN 456 D1, 7 D2, 4 D3
Isolements positifs*	3 MAY**	1 MAY 1 YF	1 DEN 1 2 DEN 2 1 MAY	7 DEN 3 5 ORO 6 MAY 1 YF	

* pour les isolements, les années correspondent aux dates de prélèvements et non aux dates d'isolement. Virus DEN=Dengue ; ZIK=Zika ; CHIK =Chikungunya, MAY=Mayaro ; ORO=Oropouche ; TON=Tonate ; YF=Fièvre Jaune
**virus détectés retrospectivement

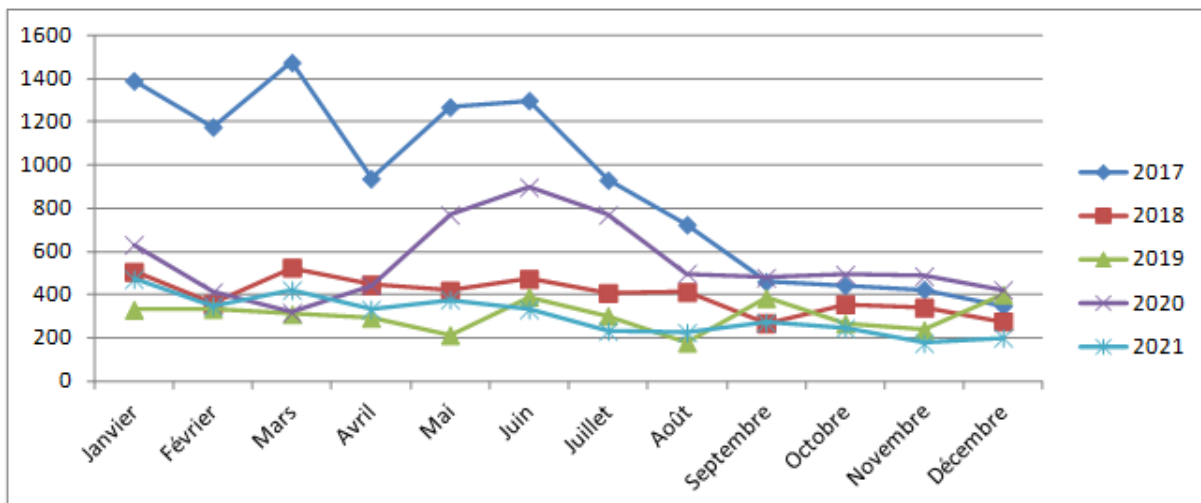


Figure 19. Evolution du nombre de prélèvements mensuels reçus au CNR-LA IPG pour la période 2017-2021.

En 2017, les derniers cas d'infection par le virus Zika ont été détectés, permettant au cours de l'année un retour à un niveau d'activité observé en période inter-épidémique. Bien qu'en forte diminution, les demandes de suivi de l'infection par le virus Zika chez les femmes enceintes ont constitué une part significative de l'activité (expliquant une forte activité en sérologie).

A partir de 2019, après de premières détections de cas de dengue majoritairement importés au cours du 1^{er} semestre, les demandes de détection et surtout de typage dengue sont allées en augmentant jusqu'en 2020 où un niveau épidémique a été atteint en Guyane comme aux Antilles. Comme évoqué précédemment, en 2020 la forte mobilisation des services de santé (notamment hospitaliers) autour du COVID a été associée à une très faible activité de demande de typage dengue de la part des hôpitaux. Cette faible activité liée aux demandes hospitalières a été compensée par une activité de diagnostic réalisée pour les laboratoires de ville de Guyane : du fait du COVID, dans les laboratoires de ville, la priorité était donnée aux activités de détection moléculaire du SARS-CoV-2. L'envoi des diagnostics de Dengue en métropole ne permettant pas l'obtention de rendu de résultats dans des délais raisonnables et compatibles avec l'intervention des services de lutte anti-vectorielle, les demandes ont été adressées au CNR-LA-IPG seul laboratoire en Guyane à maintenir, tout au long de l'année 2020, les PCR de détection et de typage de la Dengue.

Pour l'année 2021, les tableaux 12 à 14 présentent le détail des prélèvements reçus, en fonction de leur origine, ainsi que le nombre d'analyses réalisées et les résultats obtenus.

Tableau 12. Prélèvements reçus en 2021 en fonction de leur origine avec bilan des analyses moléculaires réalisées, Dengue et autres arbovirus, et résultats de ces analyses (PCR simplex ou multiplex en fonction des cibles).

ORIGINE	Total plvts reçus en 2021	Nb PCR DEN	PCR DEN pos	Sérotype			plvts testés en PCR autres	Nbre de plvts testés						PCR autres pos
				D1	D2	D3		Zika	TON	MAY et ORO	IHL et SLE	WN et JEV	YF	
CH Cayenne	1332	53	8	8			66	6	4	25	16	4	11	0
CH Saint Laurent	196	26	2	2			51	22		13	9	3	4	0
Labo Kourou	33	16	10	10			9			4	2	1	2	0
Centres de Santé	184	32	2	2			116	9	11	36	29	14	17	0
Labos Ile de Cayenne	1884	1648	445	434	7	4	496	48	9	221	196	13	9	0
Labo Saint Laurent	26	20	0				3	2		1				0
Total	3655	1795	467	456	7	4	741	87	24	300	252	35	43	0

DEN= virus Dengue, TON= virus Tonate, MAY=virus Mayaro, ORO= virus Oropouche, IHL= virus Ihleus, SLE = virus de l'Encéphalite Saint-Louis, WN = virus West Nile, JEV= virus de l'Encéphalite japonaise, YF = virus de la Fièvre jaune

Tableau 13. Prélèvements reçus en 2021 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques réalisées et résultats de ces analyses.

ORIGINE	Nb tests IgM "panel arbo"	Résultats sérologies IgM "panel arbo"									Nb plvts testés IgG Chik	IgG Chik	
		Neg	IgM DEN isol.	IgM YF isol.	IgM Flavi*	IgM TON isol.	IgM MAY isol.	IgM CHIK isol.	IgM alpha*	IgM Flavi + alpha*		Neg	Pos

CH Cayenne	1209	1057	50	23	14	56	5	4			1209	978	231
CH Saint Laurent	70	62	2	1		3	2				70	49	21
Labo Kourou	15	11	2	2							15	14	1
Centres de Santé	122	110		5		6	1				122	94	28
Labos Ile de Cayenne	188	150	14	3	15	5			1		188	173	15
Labo Saint Laurent	5	3		2							5	5	
Total	1609	1393	68	36	29	70	8	4	1	0	1609	1313	296

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

° : { IgM Flavi } : recense les prélèvements associant des IgM anti Dengue à des IgM anti ESL (Encéphalite saint Louis).

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

Tableau 14. Prélèvements reçus en 2021 en fonction de leur origine avec bilan des analyses sérologiques Zika réalisées et résultats de ces analyses.

ORIGINE	Total plvts reçus en 2021	Sérologie Zika		
		Nbre Plvts testés	% IgM Pos	% IgG Pos
CH Cayenne	1332	431	4,9%	55,6%
CH Saint Laurent	196	162	0,6%	50,6%
Labo Kourou	33	6	0,0%	33,3%
Centres de Santé	184	87	2,3%	51,7%
Labos Ile de Cayenne	1884	189	5,8%	46,6%
Labo Saint Laurent	26	1	0,0%	100,0%
Total	3655	876	4,0%	52,2%

(rq : les prélèvements positifs en IgM Zika ont été testés négatifs en IgA ce qui n'est pas en faveur d'une infection récente)

C. Travaux d'évaluation des kits

Evaluation des performances de 2 kits commerciaux pour le diagnostic sérologique de l'infection par le virus Zika (Kits Euroimmun et DiaPro). Résultats détaillés voir rapport 2017 et publication : Matheus *et al.* Performance of 2 Commercial Serologic Tests for Diagnosing Zika Virus Infection. Emerg Infect Dis. 2019 Jun;25(6):1153-1160. doi: 10.3201/eid2506.180361_

D. Activités de séquençage

Les activités de séquençage réalisées dans le cadre des activités de Santé Publique et d'expertise du CNR, ont permis au cours du mandat d'obtenir :

- des séquences partielles ciblant le gène de l'enveloppe, réalisées quand la charge virale du prélèvement ne permettait pas un séquençage complet comme par exemple pour une souche de Fièvre jaune de 2017 ou pour effectuer un génotypage (1 Chikungunya (2018), 18 Dengue 1 (10 de 2019 et 8 de 2020) et 10 Dengue 2 (4 de 2019 et 6 de 2020).
- des séquences complètes :

- * 7 séquences complètes de virus Mayaro (3 souches de 2017, 1 de 2018, 1 de 2019 et 2 de 2020)
- * 2 séquences complètes de virus Fièvre jaune (1 souche de 2018 ref Genbank : MT380735 et 1 de 2020 ref Genbank : OL353705)
- * 1 séquence complète de virus Tonate (2019)
- * 1 séquence complète de virus Oropouche (2020) (ref Genbank : segment S : OL689332, segment M : OL689333, segment L : OL689334)

Les efforts de séquençage ont été croissants au cours de ce mandat tant en nombre de séquences réalisées qu'en longueur de séquences permettant notamment une augmentation des séquençages complets. Ces résultats ont été obtenus à travers l'élargissement et la diversification des techniques utilisées : séquençage classique Sanger, mais aussi NGS technique illumina avec l'appui de la plateforme Biomix C2RT de l'IPParis (séquençage Oropouche) et surtout depuis 2020 NGS avec la technique Oxford Nanopore Technology réalisée localement à l'IPG ce qui nous permet une meilleure réactivité.

Les analyses phylogénétiques réalisées à partir de ces séquences ont montré :

- a. Pour le séquençage du gène de l'enveloppe du virus Chikungunya détecté en Guyane en septembre 2018, le virus appartient au lignage ECSA (sans appartenir au lignage Ocean Indien dont il ne possède pas la mutation E1-A226V). Il est donc distinct du lignage asiatique à l'origine de l'épidémie de 2014-2015. Toutefois la séquence obtenue présente une identité nucléotidique de 100% avec les séquences de virus provenant de moustiques collectés en Haïti en 2016 (N° accession : MG000876.1 et MG000875.1) ainsi que celles d'un cas humain au Brésil en 2014 (N° KP164570.1).
- b. Pour le séquençage des virus Dengue : 18 souches de Dengue 1 (1 de Martinique (janv 2019) et 17 de Guyane (collectées d'août 2019 à mai 2020)) et de 10 souches de Dengue 2 (1 de Martinique (oct 2019) et 9 de Guyane (collectées de juin 2019 à avril 2020)) : séquençage partiel réalisé en 2020.
- c. Pour le séquençage des virus Fièvre jaune (séquences : incomplète en 2017, ou complètes en 2018 et 2020) ces virus appartiennent tous à un même cluster auquel appartient également un virus du Suriname de 2017. Ce cluster se distingue nettement du lignage des virus responsables de l'épidémie sans précédent observée au Brésil à partir de 2016.
- d. Pour le séquençage des virus Mayaro, l'analyse de l'ensemble des séquences obtenues montrent leur proximité entre elles et avec celles de Guyane de 1996 et 1998.

Si l'analyse des séquences des virus Chikungunya et Dengue est en faveur d'importations régulières de virus à partir de virus circulant dans la région, les analyses des séquences des virus Fièvre jaune comme des virus Mayaro sont quant à elles en faveur d'une circulation locale selvatique de ces virus sur le territoire Guyanais.

3.1.3. CNR-LA LR

Evolution des techniques :

- Techniques multiplexe Chik/Dengue/leptospirose en portée B accréditée en 2017 dans la famille Microbiologie/Virologie
- Développement de la technique générique PanAlphavirus en 2018

Contrôles Qualité Externes :

Participation aux programmes CQE-SEGA d'IQLS semestriel pour le diagnostic de la Dengue et du Chikungunya et du sérotypage de la dengue de 2015 à 2017.

Participation aux CQE OMS en 2018 sur les Arboviroses : chikungunya, dengue, sérotypage dengue, Zika, fièvre faune, TBE.

QCMD Chikungunya, dengue, sérotypage dengue, Zika depuis 2019.

Transfert de techniques :

Transfert de la RT-PCR Zika dans les pays de la zone Océan Indien : Maurice, Seychelles et Madagascar.

Cession de matériel :

UMR PIMIT : 4 souches de dengue 1 ml (23 03 2018)

6 échantillons de dengue positif 1 ml (06 06 2018)

EFS de la Réunion : 1 échantillon de dengue positif 1 ml (17 04 2018)

1 échantillon de dengue positif 1 ml (16 07 2018)

Collection de matériel viral :

Nous avons isolé 21 souches de dengue en 2017 et 73 en 2018. En raison du déménagement du pôle Biologie en 2019 et de l'indisponibilité du nouveau NSB3 en raison de plusieurs non conformités, l'activité d'isolement a été suspendue. L'ancien NSB3 étant à distance du plateau technique, était réservé aux alertes Biotox. Puis durant l'épidémie de SARS-CoV2, les mises en culture ont été suspendues malgré qu'on soit en situation épidémique en raison de l'hyperactivité en virologie (dans le secteur covid, en plus de la RTPCR covid, mise en place des Tests antigéniques, des tests en biologie délocalisée, des criblages et du séquençage).

A. Impact de la crise COVID-19 sur l'activité du laboratoire

Alors que l'épidémie de dengue avait démarré début 2020, la Réunion a été impactée vers la mi-mars par l'épidémie de SARS-CoV-2. Devant la cocirculation de ces deux virus le laboratoire a rencontré plusieurs difficultés afin de répondre aux demandes d'analyses en raison de la suractivité des techniciens (nécessité de réaliser les tests covid 7j/7, pénurie de techniciens sur le marché), pénurie chronique sur le plan mondial des réactifs de biologie moléculaire, problème d'acheminement des réactifs en raison de la diminution du trafic aérien lié au confinement. Telle a été la situation durant les 2 épidémies de dengue en 2020 et 2021 qui ont été plus longues que d'habitude, se prolongeant jusqu'au mois d'août.

B. Bilan général de l'activité sur la période

Tableau 15. Bilan général de l'activité sur la période 2017-2021.

	2017		2018		2019		2020		2021	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
N total analyses	3245		7823		7270		9747		13596	
DENGUE										
Sérologies	240		653		1920		3226		3284	
IgM+ isolés	4	1,60%	52	7,90%	64	3,38%	190	5,80%	284	8,60%
IgG isolés	54	22,50%	170	26%	522	27,10%	762	23,60%	793	24,10%
IgM+ IgG+	11	4%	86	13,10%	136	7%	421	13%	343	10,40%
RT PCR	1832		4538		3477		4317		4396	
positifs	61	3,30%	1053	23,20%	616	17,70%	712	16,40%	749	17%
Typage	61		938		728		1197		1620	
Culture virale	30		92							
Positifs	21	70%	73	79%						
CHIKUNGUNYA										
Sérologies	190		219		448		447		517	
IgM+ isolés	3	1,50%	0		5	1,1%	6	1,30%	9	1,70%
IgG isolés	31	16,30%	70	31,90%	124	15,60%	134	29,90%	163	31,50%
IgM+ IgG+	9	4,70%	5	2,20%	9	2%	3	0,65%	7	1,30%
RT PCR	953		1327		686		552		3777	
positifs	0		0		0		0		0	
ZIKA										
Sérologies	0		8		5		4		2	
IgG positifs			0		1		1		1	
RT PCR	18		48		6		4		0	
Positifs	0		0		0		0			

Le bilan 2017-2021 décrit l'évolution de la situation d'endémie de la Réunion pour la dengue avec depuis 2017 une circulation maintenue durant l'hiver austral :

L'année 2017 a été marquée par une circulation autochtone de la DENV-2 avec 94 cas autochtones et 9 cas importés. Contrairement aux années précédentes où l'on observait un arrêt de la circulation de dengue durant l'hiver austral (mai-août), cette circulation s'est maintenue à bas bruit à partir durant l'hiver austral et ce jusqu'à la fin de l'année.

L'année 2018 a démarré en janvier avec un pic très important à la mi-mars (1 600 cas détectés pour le mois de mars par le CNR-LA LR, l'épidémie ayant duré de janvier à mi-mai. Nous avons réalisé 4538 RTPCR, 938 typages ont été réalisés sur un échantillonnage effectué par SPF Réunion représentatif du territoire. Toutes les dengues autochtones relevaient du DENV-2. Nous avons eu 3 DENV-1 importées de Thaïlande et 2 DENV-3 importées d'Inde.

L'épidémie de 2019 montre une épidémie avec la même cinétique qu'en 2018 mais un pic et une ampleur beaucoup plus faibles. 728 typages toujours réalisés sur un échantillonnage récupéré sur l'ensemble des relèvements de l'île réalisé par SPF Réunion ont montré. Une cocirculation des sérotypes DENV-1 et DENV-2 autochtone est observée dès le mois de janvier. Sur les 728 sérotypages réalisés, nous avons 524 DENV-2, 128 DENV-1, et l'apparition du DENV-3 en fin d'année (4 prélèvements). Nous avons aussi diagnostiqué 3 cas importés de chikungunya, 1 du Congo et 2 de Thaïlande.

En 2020, tous nos cas de RT PCR positifs ont été sérotypés ainsi que l'échantillonnage de SPF Réunion concernant les autres laboratoires public et privés de l'île. Nous avons ainsi réalisé 1172 sérotypages dont 483 pour les laboratoires extérieurs ; 986 DENV-1, 167 DENV-2 et 42 DENV-3. DENV-1 a été

détecté de façon constante sur toute l'année, DENV-2 n'est presque plus détecté à partir du mois de juillet, 42 DENV-3 ont été détectés de janvier à juin de façon groupée. Le pic épidémique était moins élevé et la durée de l'épidémie plus étalée qu'en 2018 et 2019, s'étalant de janvier à août.

L'épidémie de 2021 a eu un profil similaire que celle de 2020 bien que sensiblement décalée de 3 semaines environ. Seul le sérotype DENV-1 a été détecté parmi les 1620 typages réalisés sur le même mode que 2020 (tous les positifs du CHU plus l'échantillonnage des autres laboratoires par SPF Réunion)

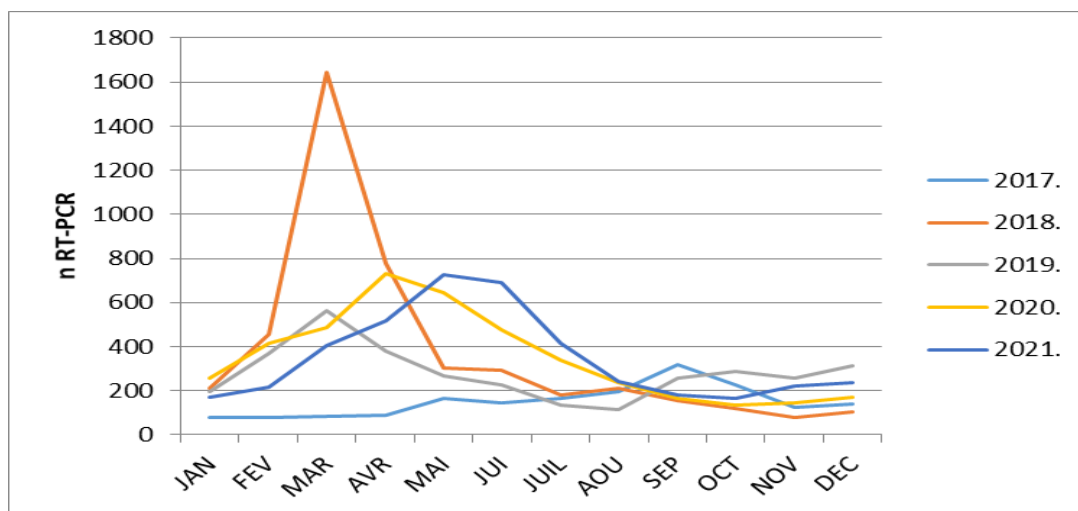


Figure 20. Nombre de RTPCR de dengue à la réunion de 2017 à 2021.

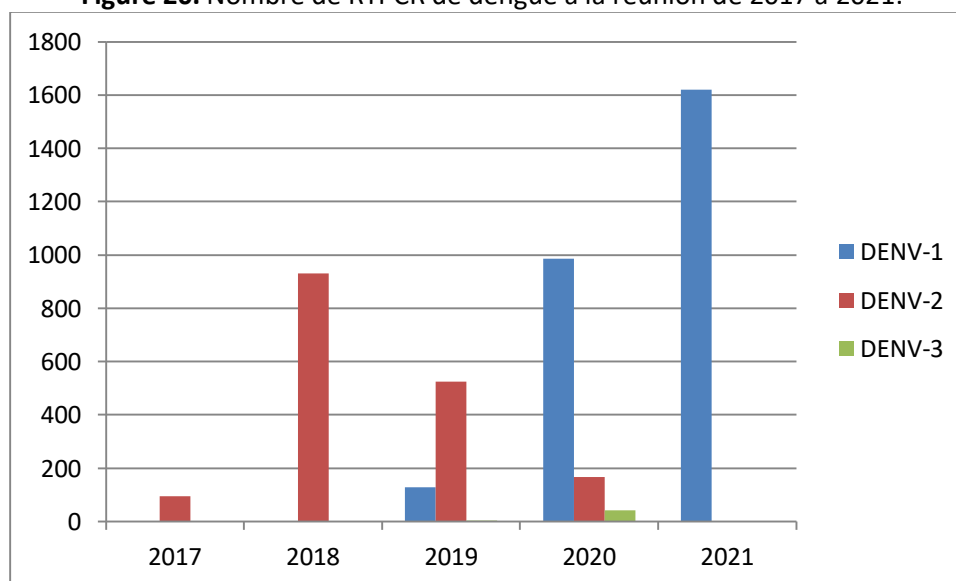


Figure 21. Evolution des sérotypes DENV-1, DENV-2 et DENV-3 de 2017 à 2021.

D. Travaux d'évaluation de kits

Octobre 2019 : Evaluation pour l'ARS de tests de diagnostic rapide (TDR) pour la dengue dans le cadre d'un déploiement de ces tests devant l'installation de la dengue sur le territoire. Le kit TROD ONSITE présente une performance supérieure à celle du TROD BIOSYNEX tant pour la détection d'anticorps que pour celle de l'antigène NS1. Sa lecture est plus aisée et rend l'opérateur plus confiant dans le diagnostic des infections aiguës.

Novembre 2019 ; Evaluation pour le GHT de la Réunion des TROD NS1 IgG IgM NADAL –Nal Von Minden et TROD NS IgG IgM IDEC 425 ; aucun des deux n'a été retenu pour leur manque de spécificité et de faux-positifs en NS1 et en IgG.

Novembre 2021 : Evaluation pour le GHT de la Réunion des TROD ONSITE CTK BIOTECH et STANDARD DIAGNOSTICS : sensibilité similaire pour NS1, meilleure en IgM pour Standard Diagnostics.

E. Activité de séquençage

Nous avons transmis au CNR-LC pour séquençage :

- Un envoi de 20 échantillons pour contrôle de nos séquençages comprenant 5 maculopathies, 5 formes graves, 8 formes non graves et 2 contrôles pour sérotypage (28/09/2021).
- 7 échantillons pour suspicion d'infections nosocomiales (prélèvements donneurs/receveurs de greffe rénale) (20/08/2019).
- 7 échantillons de DENV1 pour étudier la phylogénie de la première épidémie de DENV1 (17/06/2019).

Notre activité de séquençage a débuté en 2021 avec l'acquisition du GridION de Oxford Nanopore avec le travail de Jonathan Volia, stagiaire en 2eme année d'Ingénieur qui a réalisé la 1ère mise au point de séquençage basée sur la technique de Stubbs 2020, reprise en 2021 par le réseau Consortium Artic de Josh Quick.

Depuis, nous avons amélioré la technique en travaillant avec des fragments plus grands et avec le kit Rapid Barcoding kit d'Oxford Nanopore. En se basant sur le protocole « SARS-CoV2 genome sequencing protocol (1200bp amplicon « midnight » primer set, using Nanopore Rapid kit) V6. Nous avons validé notre technique sur des souches répertoriées et transmises par le CNR-LC. Nous arrivons à couvrir le génome à 90-96% en fonction des 4 sérotypes.

3.2. Conseil aux professionnels ou aux autorités de santé

3.2.1. CNR-LC

Le CNR est toujours à la disposition des professionnels de santé, par téléphone ou par courriel. Des avis sont ainsi donnés plusieurs fois par semaine, le plus souvent aux médecins cliniciens. Pour les questions de prise en charge médicales, nous disposons d'infectiologues compétents.

Sur le plan santé publique, le CNR est également à disposition des autorités de santé. Il a ainsi été sollicité à de nombreuses occasions par SpF (investigations autour de cas autochtones, préparation des saisons de surveillance, etc.), par la DGS, par la HAS, par le HSCP, la cellule d'aide à la décision, par l'ANSM, par l'ABM, par la CNAM, etc... Par exemple, le CNR a été questionné sur la place des TROD pour le diagnostic de la dengue à La Réunion, pour la mise à jour des recommandations de qualification en cas de PMA vis à vis du risque Zika (HSCP), sur l'état des lieux des outils diagnostiques et la place du vaccin contre la dengue (HAS). Le CNR participe à l'élaboration des recommandations émises en lien direct avec les arboviroses d'intérêt national.

Cette expertise est reconnue au niveau européen (ECDC) et international (OMS). Il participe au réseau EVD Labnet, subventionné par l'ECDC.

3.2.2. CNR-LA IPG

L'Institut Pasteur de la Guyane dispose d'un site internet : www.pasteur-cayenne.fr régulièrement actualisé sur lequel sont fournies les coordonnées du CNR-LA IPG (numéros de téléphone et adresses e-mail avec notamment une adresse générique cnrarbo@pasteur-cayenne.fr pour toute demande de renseignement). Le manuel de prélèvement du laboratoire 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 ainsi 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) mais aussi par de particuliers des DFA comme de métropole (interprétation de résultats, conseil aux voyageurs, conseil aux femmes enceintes, conseil pour la protection individuelle, etc...). Le rythme de ces sollicitations est extrêmement variable en fonction de la situation épidémiologique (mais plurihebdomadaire).

Le CNR-LA IPG participe régulièrement :

- A l'accueil d'internes en semestres de spécialisation en biologie médicale (5 semestres sur la totalité du mandat)
- A des conférences d'information destinées aux professionnels de Santé (Conseil de l'ordre, ARAVEG, réseau Perinat...).
- Au DU de Maladies Infectieuses et Tropicales - Université Antilles Guyane

Le CNR-LA IPG apporte également 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 d'Expert des Maladies à Caractère Epidémique (CEMCE) Guyane / remplacé en 2020 par le Comité maladies infectieuses émergentes (CMIE) : fréquence de réunion adaptée à la situation épidémiologique
- Membre du réseau RELDA (Arbovirus Diagnosis laboratory Network of the Americas) de la PAHO (Pan American Health Organization)
- Membre du groupe de travail Arbo-France (depuis 2019)
- Expertise HAS (Haute Autorité de Santé) en 2019 : Dengue - Conditions d'utilisation du vaccin Dengvaxia dans les départements français d'Outre-Mer
- Contribution au rapport sur l'évaluation du risque Mayaro/Oropouche en Guyane et dans les Antilles - 2021/2022 (Saisine DGS)

Enfin le CNR-LA IPG collabore étroitement avec l'unité d'entomologie de l'Institut Pasteur de la Guyane qui dispose d'un insectarium et d'un LSB3 dédié lui permettant de mener des travaux sur les *Aedes aegypti* visant notamment à évaluer leur résistance aux insecticides ainsi que leur compétence vectorielle. L'unité d'entomologie de l'IPG réalise également des investigations ciblées autour de cas d'infection à arbovirus confirmés par le CNR-LA IPG

Enfin le CNR-LA IPG collabore étroitement avec l'unité d'entomologie de l'Institut Pasteur de la Guyane qui dispose d'un insectarium et d'un LSB3 dédié lui permettant de mener des travaux sur les *Aedes aegypti* visant notamment à évaluer leur résistance aux insecticides ainsi que leur compétence vectorielle. L'unité d'entomologie de l'IPG réalise également des investigations ciblées autour de cas d'infection à arbovirus confirmés par le CNR-LA IPG.

3.2.3. CNR-LA LR

Nous participons aux réunions avec l'ARS, SPF, les professionnels de santé publique et privés. Le CNR associé intervient en tant que membre expert au sein du réseau SEGA (Surveillance des Epidémies et Gestion des Alertes) de l'Océan Indien. Il participe aux Comités de pilotage 1 à 2 fois par an. Il a été sollicité début 2016 pour la mise au point de la RT-PCR Zika dans les pays de la zone Maurice, Seychelles et Madagascar.

3.3. Contribution à la surveillance épidémiologique

Face à l'augmentation du nombre et de la sévérité des épidémies d'arbovirus dans le monde et notamment dans les territoires français ultramarins, à l'extension de ces virus à de nouvelles zones géographiques, aux introductions d'épisodes de transmission en métropole et au risque d'émergence d'autres arbovirus, la France a décidé de s'organiser pour améliorer la préparation et la réponse aux épidémies/épizooties d'arbovirus humains et animaux en métropole et dans les territoires ultramarins. C'est dans cette perspective que le réseau Arbo-France a été créé en février 2019, sous l'égide du consortium REACTing lequel a ensuite fusionné avec l'ANRS pour devenir l'ANRS - Maladies Emergentes Infectieuses en janvier 2021. L'activité de surveillance épidémiologique du CNR Arbovirus, en coordination avec SpF, s'est harmonieusement positionnée dans le groupe de surveillance épidémiologique d'Arbo-France et le CNR a également activement participé au groupe Animation et veille scientifique et aux groupes de travail sur la préparation de différents projets de recherche (cf *infra*).

Objectifs

Les objectifs d'Arbo-France sont de (1) créer un système de veille scientifique et d'alerte épidémiologique auprès de l'ANRS I MIE/Aviesan (Alliance pour les sciences de la vie et de la santé) pour la préparation de la recherche aux émergences à venir dans ce champ et facilitant les interactions entre les équipes de surveillance et de recherche en métropole et dans les territoires ultramarins, (2) aider par une animation scientifique organisée à l'émergence et au montage de projets de recherche en favorisant une approche intégrée de type One Health (une seule santé) et en capacité de répondre aux émergences ; (3) contribuer à structurer des infrastructures de recherche et (4) fournir une expertise aux acteurs et décideurs publics notamment, en matière de préparation, anticipation et réponse.

Organisation du réseau Arbo-France

Arbo-France est depuis juin 2021 organisé autour de 3 comités :

- **Comité d'orientation stratégique (COS) : Définit les grandes lignes de la stratégie scientifique et de l'organisation du réseau, valide les décisions du Comité de Pilotage (CP) et assure la liaison avec les principaux partenaires institutionnels et de santé publique en France et avec les instances de recherche au niveau Européen et international.**

- **Comité de pilotage** : Définit les priorités scientifiques, discute et met en œuvre les propositions du COS, gère la mise en place et le suivi des groupes de travail et assure la liaison avec le comité d'experts

- **Comité d'experts** : Représente une composante essentielle du réseau Arbo-France puisqu'il regroupe tous les experts identifiés en France et dans les TUM en arbovirologie humaine et animale.

Il se réunit sur un rythme mensuel et est animé à travers deux entités :

- le groupe Surveillance épidémiologique qui analyse et met en perspective les données sur la circulation des arbovirus humains et animaux en France (métropole et territoires ultramarins) et dans le monde.

- le groupe Animation et veille scientifique qui propose des discussions sur des sujets scientifiques d'actualité.

3.3.1. CNR-IRBA

Le Laboratoire a participé chaque année au plan anti-dissémination des virus Dengue, Chikungunya, et Zika. Le CNR a ainsi signalé tous les cas importés de façon hebdomadaire au département des Maladies infectieuses de SPF. Le laboratoire a également régulièrement contacté son correspondant à SPF lors de la détection de phénomènes anormaux. Lors de la période renforcée, de mai à novembre, le signalement est assuré de façon étroite avec les ARS et CIREs. Le laboratoire utilise le portail unifié Voozoo pour le partage d'information et le suivi des cas.

Le tableau 16 récapitule les émergences autochtones d'arbovirus en France métropolitaines.

Tableau 16. Emergences des virus dengue, chikungunya et Zika en France métropolitaine.

Année	Virus	Villes (Départements)	Nombre de cas	Pays d'importation *
2017				
	Chikungunya	Cannet des Maures / Taradeau (83)	17	Afrique
	Zika		3	TFA
2018				
	Dengue (type 2)	Saint-Laurent-du-Var (06)	5	
	Dengue (type 1)	Clapiers (34)	2	
	Dengue (type 1)	Nîmes (30)	1	Polynésie
2019				
	Dengue	Cahors (46)	1	
	Dengue (type 1)	Vallauris (06)	7	Thaïlande
	Dengue (type 1)	Caluire-et-Cuire (69)	2	Cambodge
	Zika	Hyères (83)	3	
2020				
	Dengue (type 1)	Cessenon-sur-Orb (34)	1	Costa Rica
	Dengue (type 2)	Nice (06)	5	La Réunion
	Dengue	La Croix-Valmer (83)	2	
	Dengue	Saint-Jean-de-Valerisclle (30)	1	Guadeloupe

Dengue (type 1)	Saint-Laurent-du-Var (06)	2
Dengue (type 2)	Montpellier (34) ou Cabrières (30)	1

2021

Dengue (type 1)	Toulon (83)	1	Guyane ?
Dengue	Montpellier (34)	1	
Dengue	Solliès-Pont (83)	1	

* basé sur l'analyse phylogénique et/ou sur la découverte d'un cas importé en lien avec l'émergence

Le laboratoire a également été sollicité dans le cadre de la prévention au regard du risque West Nile pour la sécurité transfusionnelle et de la greffe. Ainsi, il réalise la qualification des donneurs dans les cas précisés par le Haut Conseil de Santé Publique (HSCP) tous les ans.

Depuis l'épidémie d'encéphalites à tique liée à la consommation de fromage, un avis du HSCP (du 23 juillet 2020) recommande la qualification du statut TBE par PCR et sérologie pour les donneurs vivants ou décédés pour lesquels une piqûre de tique est rapportée, et pour les donneurs vivants si ceux-ci proviennent d'une zone à risque. Ainsi, le laboratoire a vu son activité de qualification de donneurs s'accroître très largement après la publication des recommandations du HSCP (Figure 22).

C'est dans ce cadre que le CNR -LC a détecté le cas d'un donneur d'organes avec une sérologie IgM et IgG positive pour le virus TBE, PCR négative, chez un donneur décédé en 2020. La datation de l'infection était impossible et l'un des reins avait été transplanté. Devant l'existence de cas rapportés dans la littérature de transmissions du virus TBE par greffe d'organe avec une mortalité de 100% chez les receveurs, une réunion d'expert a été rapidement mise en place afin de définir la conduite à tenir. Dans le cadre d'un protocole encadré par l'ANSM, une sérothérapie issue de donneurs volontaires présentant des anticorps neutralisants a été administrée. Le receveur est resté négatif en PCR.

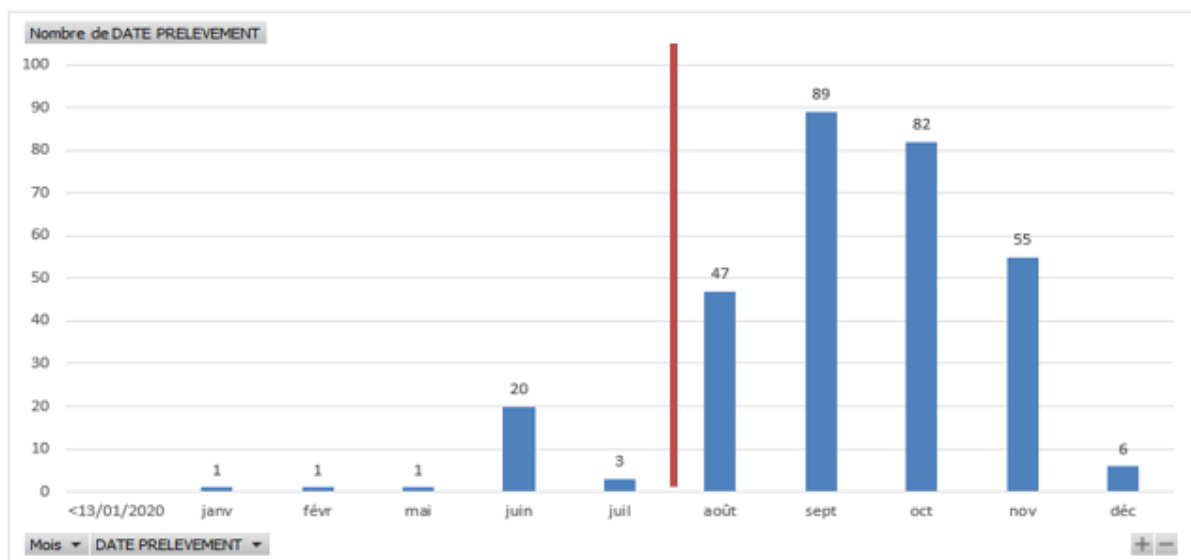


Figure 22. Activité de qualification de greffons vis-à-vis du risque TBE en 2020.

Bilan de la surveillance de la Dengue

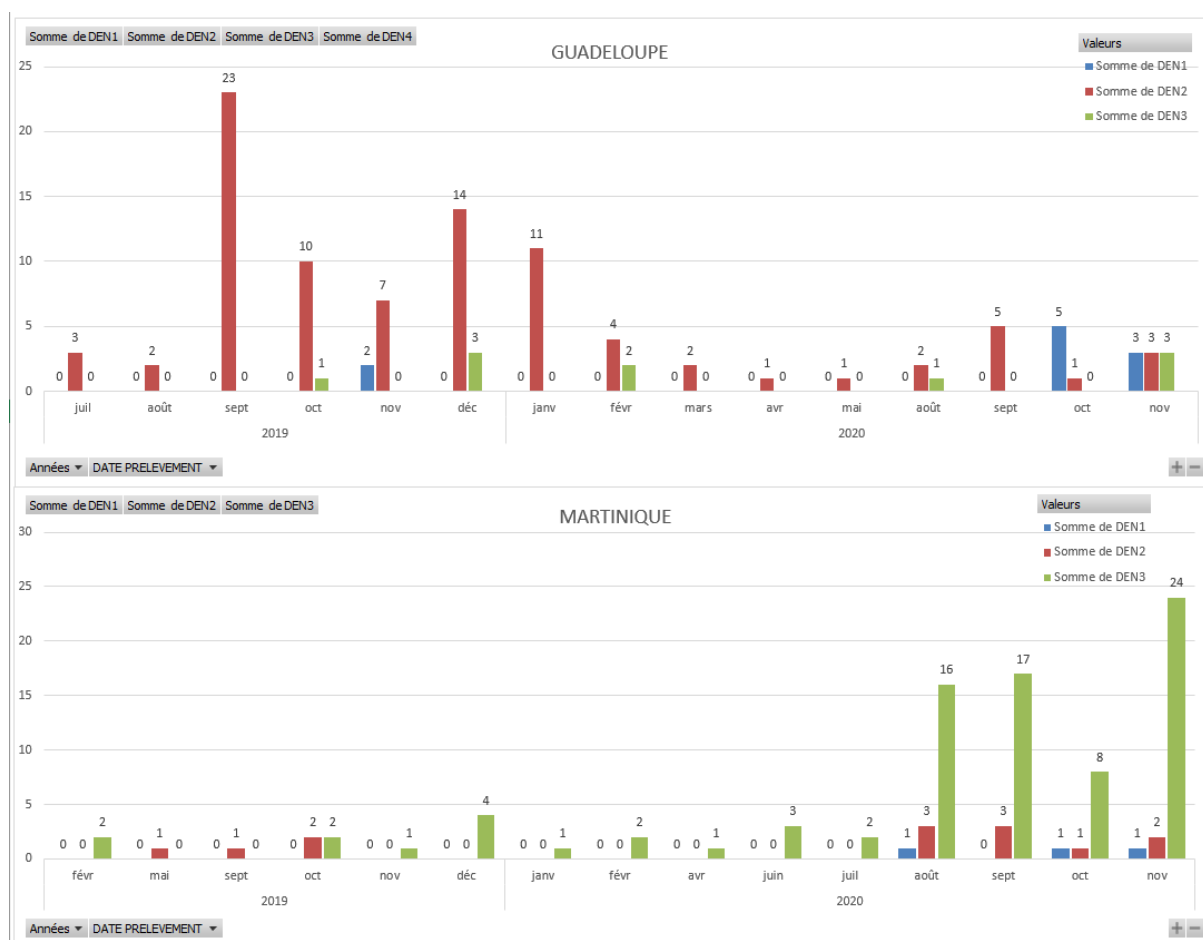
Les diagnostics moléculaires d'infection par le virus de la dengue concernaient des patients au retour de voyage, principalement en provenance des Caraïbes (47%), d'Afrique (21%) et d'Asie (14%). En Afrique, il s'agissait essentiellement de l'épidémie de dengue à Djibouti (147 cas, essentiellement (84%) dengue 1).

Antilles

Le CNR a contribué à la surveillance de l'épidémie de dengue dans les Antilles en 2019 et 2020, en effectuant le sérotypage des souches. Le CNR a obtenu une PCR positive pour 521 prélèvements :

- 251 provenant de Saint Martin : 202 dengue 1, 18 dengue 2, 29 dengue 3, 2 dengue non typables
- 101 provenant de Martinique : 3 dengue 1, 13 dengue 2, 85 dengue 3, 1 dengue non typables
- 117 provenant de Guadeloupe : 15 dengue 1, 89 dengue 2, 11 dengue 3, 2 dengue non typables
- 32 provenant des Antilles, sans plus de précision : 1 dengue 1, 26 dengue 2, 4 dengue 3, 1 dengue non typables
- 12 provenant de Saint Barthélemy : 9 dengue 1, 3 dengue 2
- 3 dengue 1 provenant de République Dominicaine

Le suivi dans le temps des sérotypes de dengue sur la base de données du CNR est représenté sur la figure 23. Le sérotype 2 était majoritaire en Guadeloupe, alors que c'était le sérotype 3 qui était majoritaire en Martinique et le sérotype 1 à Saint Martin.



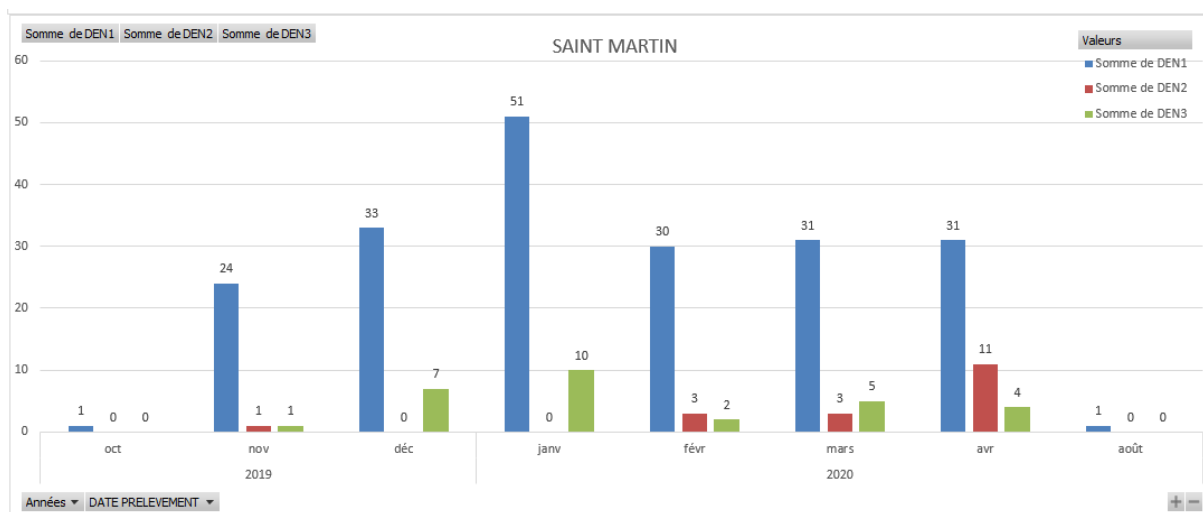


Figure 23. Evolution temporelle des sérotypes de dengue en Martinique, Guadeloupe et Saint Martin.

Guyane

Nous avons identifié en RT-PCR 10 échantillons positifs pour le virus de la dengue : 9 dengue 1 et 1 dengue 2. Il s'agissait de voyageurs au retour de Guyane.

La Réunion

La surveillance de la dengue sur l'île de La Réunion a montré une circulation à bas bruit du sérotype 2 à partir de la fin du premier trimestre 2017. L'année 2018 a été marquée par une épidémie liée au sérotype 2, suivie en 2019 par une épidémie de dengue 1. L'analyse génétique a montré des introductions multiples de virus de la dengue ayant des génotypes différents, depuis 2004 (datas non publiées).

Bilan de la surveillance Chikungunya

Djibouti

Le CNR arbovirus-IRBA a été mis à contribution en 2019 pour le suivi d'une épidémie de Chikungunya sur la base de défense de Djibouti. Le CNR a analysé 364 échantillons biologiques, 84 d'entre eux étaient positifs en RT-PCR pour le virus Chikungunya et 60 pour le virus de la dengue (sérotype 1). L'épidémie de Chikungunya a été suivie par celle de la dengue. Le séquençage de la souche de CHIKV et l'analyse phylogénétique ont montré qu'il s'agissait d'une souche ECSA provenant d'Inde et présentant la mutation AEA (meilleure adaptation au vecteur *Aedes aegypti*).

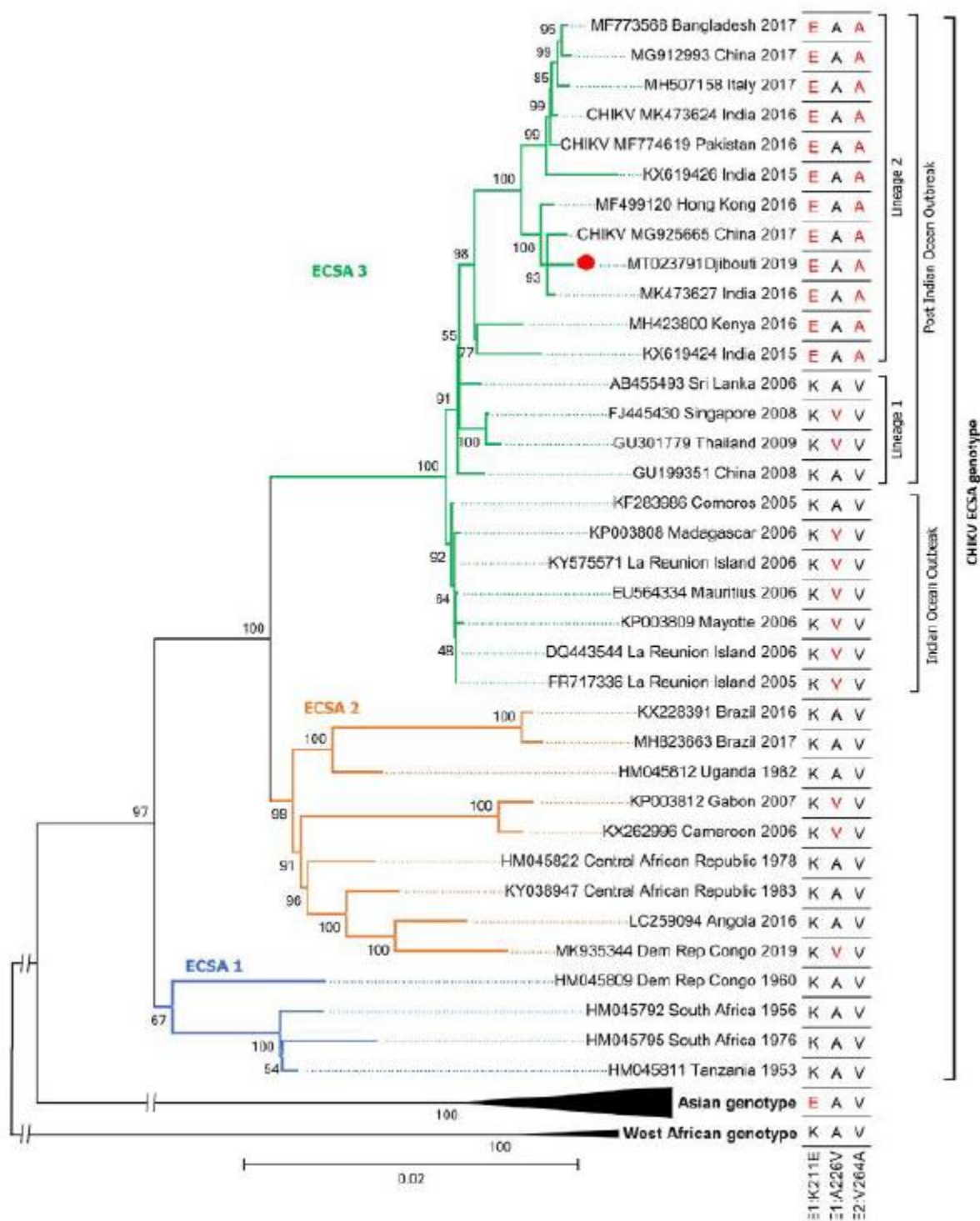


Figure 24. Analyse phylogénétique de la souche de CHIKV circulant en 2019 à Djibouti (Fourié T. et al., Emergence of Indian lineage of ECSA chikungunya virus in Djibouti, 2019. Int J Infect Dis. 2021)

Bilan de la surveillance West Nile

L'année 2018 a été marquée par un nombre important de cas autochtones d'infections par le virus West Nile en Europe. Le CNR a diagnostiqué 26 cas humains d'infection par le virus West Nile entre juillet et novembre 2018. Il y a eu 7 formes neuro-invasives, 18 formes fébriles et 1 forme asymptomatique. En particulier un donneur d'organes a été diagnostiqué positif permettant de

stopper partiellement le processus de greffe. Deux receveurs avaient néanmoins déjà reçu les greffons. Ils ont bénéficié d'un traitement antiviral préventif et d'un suivi très rapproché avec un prélèvement sanguin réalisé tous les 2 jours et envoyé au CNR Arbovirus-IRBA pour PCR et sérologie. Nous avons mis en place un système d'astreinte afin de réaliser les analyses immédiatement y compris les week-ends. Les deux receveurs sont restés négatifs en PCR et sérologie et leur évolution a été favorable.

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

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

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

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

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

Bilan de la surveillance Zika

Transmission vectorielle du virus Zika à Hyères en 2019

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

Bilan de la surveillance encéphalite à tique

Le laboratoire est mis à contribution pour la recherche en sérologie et en PCR du virus de l'encéphalite à tique. Il réalise en effet cela dans 3 cadres :

- Diagnostic de première ligne pour les laboratoires ne faisant pas cette recherche
- Diagnostic de seconde ligne pour confirmer ou infirmer les cas
- Qualification de greffe de donneurs vivant en zone d'endémie (voir [paragraphe 3.1.1](#))

Durant le dernier mandat, le laboratoire a participé à l'alerte, au suivi et à la caractérisation de deux émergences :

Au cours de l'année 2018, un nouveau cas neurologique d'infection par le virus TBE a été mis en évidence dans le département de Haute Loire, cas confirmé biologiquement en particulier par la détection d'anticorps spécifiques anti-TBE par séroneutralisation. Suite à la détection du premier cas en 2017 dans ce département, ce second cas en 2018 confirme une extension géographique de la zone à risque d'infection par le virus TBE. Au total en 2018, 20 cas autochtones d'infection ont été rapportés.

En 2020, le CNR a été sollicité dans l'investigation d'un foyer de méningite lymphocytaire sans étiologie dans l'Ain. Au total 41 cas d'infections par le virus TBE ont été confirmés et 2 ont été classés comme probables. Les confirmations ont été faites biologiquement par recherche d'anticorps IgM et IgG dans le LCR et le sang, et par séroneutralisation pour certains échantillons. L'origine de la contamination était alimentaire par consommation de fromage de chèvre non pasteurisés vendus sur le marché. Le CNR arbovirus-IRBA, en collaboration avec l'ANSES, a montré la présence du génome viral dans 7 des 103 fromages testés, et la présence d'anticorps (IgM n=1, IgG n=5) dans le sang des chèvres du troupeau du producteur local. A la suite de ce cluster, des recommandations pour la prévention du risque de transmission par voie transfusionnelle, greffe d'organe, et don de cellules souches hématopoïétiques ont été publiées (avis de HSCP du 23/07/20, directive de l'agence de biomédecine du 27/08/20). Le CNR s'est ainsi vu confier la qualification des dons pour les personnes résidant en zone à risque (France métropolitaine et autres pays).

Bilan de la surveillance encéphalite à Toscana

Le laboratoire réalise la sérologie et la PCR Toscana pour tous les échantillons reçus pour lesquels le patient déclare avoir séjourné dans le sud de la France et l'Italie. Au total sur la période, 19 échantillons étaient positifs en sérologie (IgM et IgG positifs), 3 étaient positifs en PCR. Une souche a été isolée sur un prélèvement de LCR à J+1 de la date de début des signes (céphalées, myalgies). Le patient n'avait pas voyagé et habitait Aix en Provence.

Bilan des cas importés d'autres arboviroses

Cas de fièvre de la vallée sur Rift

Le laboratoire a été impliqué dans la surveillance de l'épidémie de Fièvre de la Vallée du Rift à Mayotte en 2019. Au total, 45 patients ont été suivis : 2 prélèvements ont été positifs en PCR, et un en sérologie (IgM+ et IgG+).

Cas de fièvre jaune

Durant ce dernier mandat, le laboratoire coordinateur a été sollicité dans le cas de suspicions de complications post vaccination fièvre jaune. Au total sur la période, 6 cas ont été analysés :

- 1 cas a été confirmé : forme neurotrope (type 2A OMS) à J+16 de la vaccination

- 2 cas probables : le premier de forme neurotrope (type 1 OMS) présentant une PCR positive plus de 7 jours après la vaccination ; le second de forme viscérotrope (type 2 OMS) présentant une PCR positive dans le sang à J+7
- 1 cas suspects : le second de forme neurologique (type A2 OMS)
- 2 cas neurotropes non confirmés présentant des IgM dans le LCR mais dont la forme clinique est peu en faveur

En 2018 le CNR-IRBA a confirmé le diagnostic de fièvre jaune pour 6 patients non vaccinés de retour du Brésil entre février et avril 2018. Le CNR Arbovirus-IRBA a également confirmé le cas de Fièvre de Jaune survenu en Guyane en 2017. Les cas importés du Brésil sont présentés ci-dessous :

- Les cas 1.JT et 2.LB ont été diagnostiqués par PCR dans le sérum à J7 et J15 après le début des symptômes. On notera pour ces deux patients la contribution des urines également positives en PCR avec des charges virales plus élevées, et particulièrement à J22 pour le cas 2.LB alors que le sérum apparié s'était négativé.
- Les cas 3.AA , 4.PM et 5.CG ont été diagnostiqués par sérologie IgM et IgG. La séroneutralisation a permis de démontrer la spécificité des anticorps anti fièvre jaune et d'éliminer une infection par le virus de la dengue.
- Le cas 6.PG montre une évolution clinique extrêmement particulière. La première phase de la maladie débute au Brésil où il est hospitalisé du 11 au 15 Avril 2018. Le diagnostic de dengue est alors posé. Le patient évolue favorablement et ne présente plus aucun symptôme à son retour en France le 17 Avril. Il voyage en Guadeloupe 5 semaines plus tard. La 2ème phase de la maladie débute à 4 jours de son retour en métropole. Il se présente aux urgences du CHU de Nice une semaine plus tard avec une cytolysse hépatique et une cholestase ictérique. Nous sommes à 63 jours de la date de début des signes, la PCR est négative et la sérologie positive pour la fièvre jaune. Le diagnostic sera confirmé par séroneutralisation qui invalidera également les antécédents de dengue. La PCR fièvre jaune sera positive à partir d'une biopsie hépatique effectuée à 73 jours du début des symptômes. Le patient a évolué favorablement.

Études de séroprévalence

Le laboratoire coordonnateur a participé durant ce mandat à deux grandes enquêtes de séroprévalence :

- Étude Unono Wa Maore. Le but était d'estimer le potentiel épidémique des arbovirus à Mayotte sur une cohorte de Santé Publique France de patients prélevés entre le 1er décembre 2018 et mai 2019. 2987 tubes ont été reçus et 2719 ont été analysés en sérologie pour les virus de la dengue, du West Nile, du Chikungunya et en IgG pour le virus de la fièvre de la vallée du Rift. Un sous-échantillon de 245 prélèvements positifs en IgG fièvre de la vallée du Rift ont été analysés en sérologie IgM. Un échantillonnage représentatif (sélectionné par Santé Publique France) de 265 échantillons a été analysé en séroneutralisation pour les quatre sérotypes de dengue, West Nile et Usutu. Les résultats sont en cours de valorisation par Santé Publique France
- Étude de séroprévalence pour le virus Zika à Hyères (cf [paragraphe 3.1.1](#))

3.3.2. CNR-LA IPG

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

IPG, participe également à l'investigation des cas selon les modalités définies par les plans de lutte contre ces virus, en vigueur dans les DOM de la région : PSAGE (Programme de Surveillance, d'alerte et de Gestion des Epidémies) - Dengue élargi aux virus Chikungunya et Zika.

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

Dans les TFA (territoires français des Amériques), après une succession d'épidémie et d'émergences quasi ininterrompues de 2012 à 2016, le début du mandat 2017-2021 s'est caractérisé par une situation épidémiologique plutôt calme pour ces 3 arboviroses.

Aucun cas d'infection par les virus Chikungunya et Zika n'a ainsi été détecté en Guyane depuis 2019 : les derniers cas confirmés d'infection à virus Zika remontent à 2017 tandis qu'un seul cas d'infection par le virus Chikungunya, (cas importé du Brésil) a été confirmé en 2018.

Pour les virus Dengue, la surveillance n'a pas permis de mettre en évidence de circulation significative en 2017 ni 2018 : à l'exception de la détection au cours du dernier trimestre de 2018 de quelques foyers de dengue (DENV-1) en Guadeloupe et à Saint Martin.

A partir de 2019, après la détection de différents cas importés, une reprise d'une circulation autochtone de la Dengue a été observée aboutissant fin 2019 ou début 2020 à une situation épidémique dans tous les DFA, 6 ans après les dernières épidémies de Dengue.

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

Une co-circulation de différents sérotypes a été observée avec des sérotypes majoritaires distincts dans chaque territoire (DENV-1 en Guyane, DENV-2 en Guadeloupe, DENV-3 en Martinique. Seul le sérotype 4 n'a pas été détecté.

Tableau 17. Caractéristiques des épidémies de Dengue dans les DFA 2019-2021 – (Sources : PE – SpF Antilles et Guyane).

	Martinique	Guadeloupe	Saint Martin	Saint Barthélemy	Guyane entière (cumul surv. sectorisée)
Début d'épidémie (année-semaine)	2019-45	2019-42	2020-03	2020-17	2020-04
Fin d'épidémie (année-semaine)	2021-07	2021-10	2021-11	2021-07	2021-25
Durée (nb semaine)	67	73	60	42	75
Sérotype	DENV-3 majoritaire >> DENV-2 > DENV-1	DENV-2 majoritaire > DENV-1 et DENV-3	DENV-1 majoritaire	DENV-1 majoritaire	DENV-1 (91%) >> DENV-2 (8%) > DENV-3 (<1%)*
Nb de cas estimés	~ 33 000	~ 23 600	~ 2 820	1 466	~ 10 900
Nb de Décès	17	2	1	-	4

**16 cas de DENV-3 identifiés au total en Guyane (parmi lesquels 8, au moins, se sont avérés importés)

Parallèlement à cette surveillance Dengue, Chikungunya et Zika, le CNR-LA IPG réalise un échantillonnage de prélèvements d'intérêt (clinique évocatrice et prélèvement précoce DDS<5j) parmi les prélèvements reçus pour diagnostic et /ou expertise arbovirus) pour une recherche d'autres arbovirus, en particulier les virus Tonate, Mayaro, Oropouche Cette surveillance débutée au cours du mandat 2017-2021, est venue confirmer le caractère endémique de ces virus en Guyane (voir bilan des détections [paragraphe 3.1](#)).

L'introduction à la nomenclature des actes de biologie médicale des diagnostics moléculaires des virus Dengue, Chikungunya et Zika a permis une nette diminution des prélèvements reçus au CNR-LA IPG pour diagnostic de première intention des arboviroses, permettant au CNR de se recentrer sur des activités d'expertise. Malheureusement, en contrepartie et en l'absence d'une surveillance sentinelle spécifique, l'accès restreint et non représentatif du CNR-LA IPG à des prélèvements précoces s'est avéré être une limite pour la surveillance de la circulation de ces autres arbovirus.

Fort de ce constat, le CNR-LA IPG s'est engagé, au cours de l'année 2022, sous la coordination de l'ARS Guyane, et en collaboration avec laboratoires privés et hospitaliers, dans la mise en place d'un réseau de surveillance biologique pour ces autres arboviroses.

Études de séroprévalence :

Le CNR-LA IPG a participé au cours de ce mandat à une grande enquête de séroprévalence des arboviroses en Guyane : l'enquête EPI-ARBO. Après tirage au sort de logements stratifiés par commune, 2717 personnes ont été enquêtées sur l'ensemble des communes de Guyane de juin à octobre 2017. Les séroprévalences ont été respectivement estimées à 23.3% [20.9%-25.9%] pour le virus Zika avec de larges variations (0% à 45.6%) selon les communes (cf Flamand et al JID), et respectivement à 20% [19%-22%] pour le virus Chikungunya et 3.2% [2.6%-3.8%] pour le virus Mayaro avec là encore une large hétérogénéité géographique cohérente avec la répartition de leurs vecteurs respectifs (cf Hoze et al, Nature Communications). La séroprévalence globale de la Dengue a quant à elle été estimée à 73.1% (70.6-75.4) (cf Bailly et al, Viruses).

3.3.3. CNR-LA LR

La surveillance épidémiologique se fait en liens avec :

- L'ARS Réunion
- SPF France et Réunion
- Le service de la Lutte antivectorielle
- L'Agence de Biomédecine
- Le réseau les laboratoires publics et privés de l'île
- Le CH de Mayotte
- Le réseau SEGA de l'Océan Indien

Qualifications des dons d'organe :

Depuis l'épidémie de Chikungunya, le CNR-LA LR a travaillé avec l'Agence de Biomédecine afin de sécuriser les dons d'organe notamment en réalisant une détection du virus Chikungunya dans le bilan de qualification des dons de cornée, la cornée ayant été décrite comme niche virale avec la possibilité de transmission de la maladie. Suite aux recommandations de l'Agence de Biomédecine, une RT-PCR dengue plasmatique a été ajoutée au bilan de qualification du don de rein, le virus de la dengue étant susceptible d'être éliminé par le rein. Une astreinte a été mise en place pour répondre à la demande. Malgré cette mesure, en mai 2019, nous avons observé une dengue nosocomiale transmise par le rein du donneur aux 2 receveurs. Le donneur avait dans ses antécédents une dengue datant d'environ 1 mois. En lien avec le service de néphrologie, une recherche du virus de la dengue dans les urines a été

ajoutée. Et depuis le 1^{er} trimestre 2021, afin de tenir compte des formes asymptomatiques de dengue, la recherche de dengue a été aussi instauré chez les receveurs.

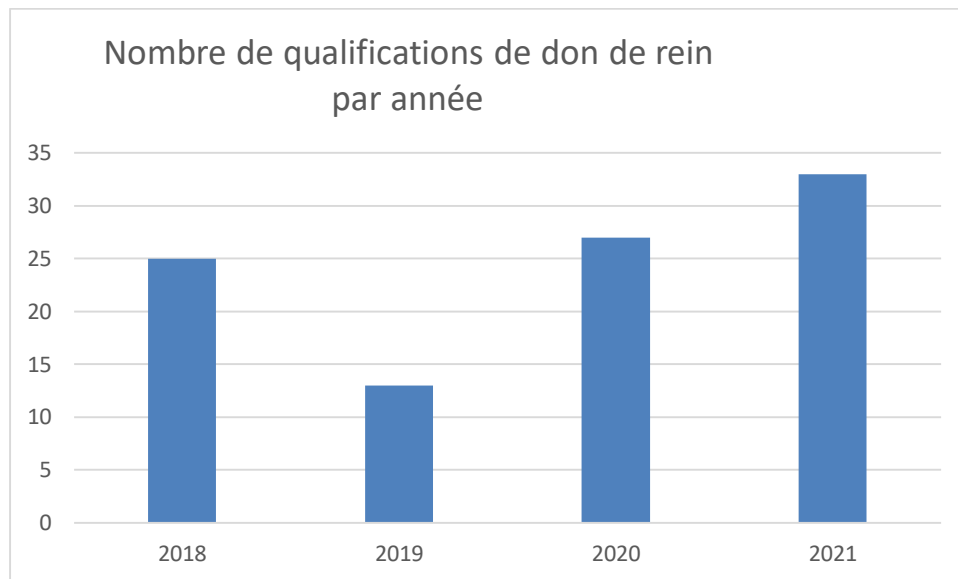


Figure 25. Qualifications de donneurs de rein par année.

Transmission nosocomiale de dengue chez des receveurs de rein :

Malgré la réalisation des RTPCR de dengue dans les urines et le plasma, nous avons observé la transmission de dengue par le greffon de 3 donneurs chez les 6 receveurs. L'hypothèse est que le rein est un organe niche pour le virus de la dengue.

Un article est en cours de soumission dans *Kidney International* : Dengue virus in Kidney Allograft: Implications for donor screening and viral reservoir. Ludovic Di Ascia^{1,2}, Marie Christine Jaffar-Bandjee³, Marie Pierre Cresta⁴, Anne Sophie Vasseur¹, Nathalie Lugagne⁵, Henri Vacher-Coponat^{1,2}, Clément Gosset¹. ¹Department of Nephrology and Kidney Transplantation, CHU Felix Guyon, Saint Denis La Reunion, France; ²UFR Santé La Reunion; ³Department of molecular biology, CHU Felix Guyon, Saint Denis La Reunion, France; ⁴Department of Intensive care, CHU Sud, Saint Pierre La Reunion, France; ⁵Department of Nosocomial infection control, CHU Felix Guyon, Saint Denis La Reunion, France.

Par ailleurs, nous avons été sollicité pour analyser avec SPF France et Réunion et le CNR-LC le cas d'une transmission de la dengue par une greffe rénale chez un receveur métropolitain à partir d'un donneur de la Réunion, pour laquelle le serotype est DENV2 alors que DENV1 était exclusivement isolé en 2021. Le 2eme receveur métropolitain aussi n'a pas développé de dengue. Ce cas est complexe mais l'hypothèse d'une transmission par la greffe reste plausible. Le génotypage de la souche a été identifiée comme proche de celle circulant à la Réunion au début de l'épidémie 2018-2019.

Surveillance et recenser les atteintes ophtalmiques de dengue :

Au cours de l'épidémie de dengue de 2019, les ophtalmologistes et infectiologues de l'île ont tiré la sonnette d'alarme devant l'apparition de formes ophtalmologiques de dengue dont des maculopathies.

Analyse des sérologies dengue IgM positives "fréquentes" au début de l'année 2021 :

Alors que l'épidémie de dengue n'avait pas vraiment démarré au début de l'année 2021, nous avons été alerté par SPF Réunion sur une fréquence plus élevée que d'habitude de sérologie dengue avec des IgM alors qu'il n'y avait peu de cas avec RTPCR positive. En raison de la forte circulation du SARS-CoV2 (variant Delta puis apparition du variant Omicron) ainsi que de plusieurs virus respiratoires (VRS,

Rhinovirus...). Une recommandation a été faite afin de solliciter les médecins de réaliser une 2ème sérologie de contrôle afin de vérifier la cinétique des anticorps. Même si nous n'avons pas eu beaucoup de sérologies à contrôler, cette augmentation des IgM semble être liée pour partie à une stimulation polyclonale.

3.4. Contribution à l'alerte

3.4.1. CNR- IRBA

Le CNR-IRBA a signalé tous les cas importés de façon hebdomadaire au département des Maladies infectieuses de SPF. Le laboratoire a également régulièrement contacté par courriel et éventuellement par téléphone son correspondant à SPF lors de la détection de phénomènes anormaux tels que les suspicions de cas autochtones de Dengue, Chikungunya et Zika. Lors de la période renforcée, de mai à novembre, le signalement est assuré de façon étroite avec les ARS et CIREs par courriel et le laboratoire utilise le portail unifié Voozoo pour le partage d'information et le suivi des cas. Lors de suspicion de cas autochtones ou de phénomènes anormaux, des points téléphoniques sur l'avancement des analyses et l'interprétation des résultats sont également assurés avec les Cires et SPF.

Les alertes post-transplantation d'organe ont été faites auprès de SPF et de l'agence de biomédecine pour les cas de West Nile (2018), TBE (2020) et Dengue (2021) et le CNR a effectué le suivi biologique post-transplantation des patients.

Ont également été signalés les cas d'importation d'arboviroses plus rares en métropole telles que la fièvre jaune (2018) et la fièvre de la vallée du Rift (2021).

3.4.2. CNR-LA IPG

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

a. **Les premières confirmations (PCR positives), après plusieurs années sans détection, d'arbovirus à potentiel épidémique :**

Cela a par exemple été le cas pour une détection de virus Chikungunya en octobre 2018 (cf & activités de séquençage), pour les premières détections de cas d'infection Dengue 1 et 2 tous importés au cours du 1^{er} semestre 2019 ou encore pour les détections de cas autochtones de Dengue 3 fin 2020 et début 2021 (ce sérotype n'ayant plus été détecté en Guyane depuis 2005, en dehors de rares cas sporadiques).

b. **Les détections d'infection par le virus de la Fièvre jaune :**

Début 2017, devant le démarrage d'une importante épizootie / épidémie de Fièvre Jaune au Brésil, le CNR-LA-IPG a décidé de modifier le panel d'antigènes (au nombre de 5), testé pour toute demande de sérologie « arbovirus » adressée au CNR. La recherche d'IgM dirigées contre le virus de l'Encéphalite Saint Louis a ainsi été remplacée par la recherche systématique d'IgM dirigées contre le virus de la Fièvre Jaune. Parallèlement une 2^{ème} technique moléculaire pour la détection du virus de la Fièvre Jaune était mise en place au CNR (qRT-PCR taqman ciblant la région 5'UTR) en complément de la technique déjà en place (technique Sybergreen ciblant la région NS5).

Au cours du mandat 2017-2021, un total de 4 cas d'infection par le virus de la Fièvre jaune, tous mortels ont été détectés après près de 20 ans sans détection.

- 1 cas en août 2017 chez une patiente de 43 ans, d'origine brésilienne et travaillant sur un site d'orpaillage clandestin proche de Saint Elie et décédée, quelques heures après son admission en réanimation dans un tableau d'hépatite sévère. Les investigations menées par l'ARS et SpF

Guyane n'ont pas permis de préciser le lieu de la contamination, la patiente ayant voyagé au Brésil dans les semaines ayant précédé son décès.

- 1 cas en août 2018 chez un patient de 40 ans non vacciné contre la fièvre jaune. De nationalité Suisse, il séjournait depuis 4 mois en Guyane, à environ 40 km de Cayenne. Après 3 jours d'évolution d'un tableau clinique associant fièvre et myalgies, le patient avait été hospitalisé devant l'aggravation de son état (persistance d'une fièvre élevée, vomissements et prostration accompagnés de défaillance hépatique et rénale). Malgré un transfert en métropole 2 jours plus tard pour transplantation hépatique, le patient est décédé 20 jours plus tard.

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

- 2 cas en 2020 :
 - *1 cas en juillet 2020 chez un jeune amérindien né en 2005 et vivant sur le Haut Maroni. Malade depuis 9 jours il avait été transféré en réanimation au CH Cayenne avec un tableau d'insuffisance hépatocellulaire. S'il avait bénéficié d'une vaccination Fièvre jaune à l'âge d'un an, il n'avait pas reçu de rappel comme prévu par le programme de vaccination car il n'était pas correctement scolarisé du fait d'un retard psychomoteur.
 - *1 cas en octobre 2020 chez un orpailleur illégal déposé au CDPS de Maripasoula par des collègues et transféré en réanimation au CH de Cayenne où il est rapidement décédé comme le cas précédent.

L'analyse phylogénétique de ces virus est en faveur d'une circulation locale persistante de la Fièvre jaune en Guyane (cf & activités de séquençage), circulation qui, même si un risque épidémique est exclu compte tenu du caractère obligatoire de la vaccination sur le territoire, reste très probablement sous estimée, les 4 cas détectés ayant tous présenté une évolution fatale.

c. Détection d'une circulation du virus Mayaro sur l'île de Cayenne (juin à sept 2020) :

Début septembre 2020, dans un contexte d'activité de surveillance sérologique des arbovirus très faible du fait de l'épidémie de Covid, le CNR-LA-IPG avait détecté la présence d'IgM Mayaro chez 3 patients présentant des arthralgies marquées au décours d'un syndrome Dengue-like non étiqueté. Le diagnostic d'infection par le virus Mayaro avait pu être confirmé par PCR pour les 2 patients pour lesquels un prélèvement précoce (<J5) avait pu être retrouvé. Une analyse rétrospective, puis prospective a alors été réalisée, à la recherche d'infection par le virus Mayaro, parmi les prélèvements reçus au CNR pour un syndrome dengue-like évoluant depuis moins de 5j et négatifs en PCR Dengue.

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

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

d. Détection d'une épidémie liée au virus Oropouche à Saül en août 2020

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

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

Au total, pour ces 28 patients, le diagnostic d'infection par le virus Oropouche a pu être confirmé pour 23 d'entre eux (par PCR et/ou par séroneutralisation). Pour les 5 autres patients prélevés, négatifs en PCR, l'apparition d'anticorps neutralisants n'a pas pu être testée en l'absence de prélèvement tardif.

(cf rapport annuel 2020 et publication: Gaillet M, Pichard C, Restrepo J, Lavergne A, Perez L, Enfissi A, Abboud P, Lambert Y, Ma L, Monot M, Demar M, Djossou F, Servas V, Nacher M, Andrieu A, Prudhomme J, Michaud C, Rousseau C, Jeanne I, Duchemin JB, Epelboin L, Rousset D. Outbreak of Oropouche virus in French Guiana. Emerg Infect Dis. 2021 Oct;27(10):2711-2714. doi: 10.3201/eid2710.204760. PMID: 34545800)

3.4.3. CNR-LA LR

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

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

Nous avons confirmé au cours du 1er trimestre 2017 le premier cas de dengue 2 pour les Seychelles.

Le CNR-LA LR a confirmé le 1er cas de la Fièvre de la Vallée du Rift pour le CH de Mayotte (Décembre 2018).