

**Rapport annuel
d'activité**

2014

**Centre national de
référence des virus
influenzae**

**Saison
2012-2013**

Sommaire

1 Missions et organisation du CNR	8
1.1 Missions et objectifs.....	8
1.1.1 Equipes.....	8
1.1.2 Locaux et équipements.....	8
1.1.3 Démarche qualité.....	8
2 Activités d'expertise	11
2.1 Évolutions des techniques	11
2.1.1 Techniques de détection.....	11
2.1.2 Techniques de sérologie	12
2.1.3 Evaluation d'un kit de détection rapide par chromatographie	12
2.1.4 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	12
2.2 Analyses virologiques au cours de la saison 2012-2013.....	14
2.2.1 Collection et analyses virologiques d'échantillons cliniques	14
2.2.1.1 Analyses virologiques d'échantillons cliniques humains (surveillance saisonnière).....	14
2.2.1.2 Analyses virologiques d'échantillons cliniques humains (virus émergents)	20
2.2.1.3 Collection de souches de virus influenza aviaire A(H5N1).....	20
2.2.1.4 Collection de prélèvements provenant d'études ou de firmes	21
2.2.1.5 Collection de souches, antigènes de référence et immun-sérums.....	21
2.2.2 Sensibilité aux antiviraux	22
2.2.2.1 Tests génétiques	22
2.2.2.2 Test fluorimétrique (phénotypique)	23
2.2.3 Distribution de matériel biologique	24
3 Activités de surveillance.....	25
3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	25
3.1.1 Surveillance en Métropole.....	25
3.1.1.1 Réseaux.....	25
3.1.1.2 Les prélèvements.....	28
3.1.1.3 Données d'activité médicale et sanitaire.....	29
3.1.1.4 Surveillance virologique.....	30
3.1.1.5 Contribution à la surveillance microbiologique et épidémiologique des autres agents pathogènes responsables d'infections respiratoires aiguës.....	40
3.1.1 Surveillance en Région Antilles-Guyane	48
3.1.1.1 Réseau de partenaires	48
3.2 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....	55
3.3 Contribution aux réseaux de surveillance européen et internationaux.....	56
3.3.1 EISN/ECDC	56
3.3.2 FluNet/OMS	56
3.3.3 Contrôle de Qualité.....	56
3.4 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance.....	57
4 Alerte	57
5 Activités d'information, de formation et de conseil	58
5.1 Enseignements, formations aux professionnels de santé, accueil de stagiaires.....	58
5.1.1 Enseignements.....	58
5.1.2 Séminaires, conférences grand public et relations avec la presse	59

5.1.3	Formation, accueil de stagiaires	60
5.2	Modalités de diffusion des données de la surveillance	60
5.3	Activités d'expertises auprès des instances de santé nationales et internationales	60
5.3.1	Activités auprès des instances de santé nationales.....	60
5.3.1.1	Ministère de la Santé et DGS	60
5.3.1.2	InVS	61
5.3.1.3	ANSM	61
5.3.2	Activités auprès des instances de santé internationales	61
5.3.2.1	EISN/ECDC.....	61
5.3.2.2	OMS	61
5.3.3	Membre de réseaux et membre de conseil scientifique d'institutions extérieures.....	62
6	TRAVAUX DE RECHERCHE et publications EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR ..	63
6.1	Activités de recherche en lien direct avec l'activité du CNR.....	63
6.1.1	CNR-IPP	63
6.1.2	CNR-HCL	65
6.1.3	CNR-IPG	66
6.2	Publications et communications en lien direct avec l'activité du CNR.....	67
6.2.1	Publications nationales	67
6.2.2	Publications internationales	67
6.2.3	Communications nationales.....	72
6.2.4	Communications Internationales.....	72
6.2.5	Communications Nationales sur invitation	73
6.2.6	Communications Internationales sur invitation	73
6.2.7	Comité scientifique ou d'organisation de congrès ou colloques.....	74
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale	75
8	Programme d'activité pour les années 2012-2013 et 2013-2014.....	75

Figures

Figure 1 : Suspicion MERS-CoV - Répartition de la provenance - Autres étiologies	20
Figure 2 : Représentation géographique du réseau des GROG.....	27
Figure 3 : IRA, Grippe Clinique (GC) et Grippe confirmée virologiquement (G+).....	29
Figure 4 : IRA en Médecine Générale France 2012-13.....	29
Figure 5 : IRA par tranches d'âge en France	30
Figure 6 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France	31
Figure 7 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Nord.....	31
Figure 8 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Sud.....	32
Figure 9 : Détection des virus grippaux en France	33
Figure 10 : Détection des virus grippaux en France-Nord.....	33
Figure 11 : Détection des virus grippaux en France-Sud	34
Figure 12 : Détection des virus grippaux en France	34
Figure 13 : Détection des virus grippaux en France-Nord.....	35
Figure 14 : Détection des virus grippaux en France-Sud	35
Figure 15 : Détection des virus grippaux en France	36
Figure 16 : Détection des virus grippaux en France-Nord.....	36
Figure 17 : Détection des virus grippaux en France-Sud	37
Figure 18 : Détection du VRS en France	41
Figure 19 : Détection du VRS en France-Nord.....	41
Figure 20 : Détection du VRS en France-Sud.....	42
Figure 21 : Détection des rhinovirus humains en France.....	43
Figure 22 : Détection des rhinovirus humains en France-Nord	44
Figure 23 : Détection des rhinovirus humains en France-Sud.....	44
Figure 24 : Détection des adénovirus en France	45
Figure 25 : Détection des virus parainfluenza en France	46
Figure 26 : Détection des métapneumovirus humains en France	47
Figure 27 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal.....	49
Figure 28 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal.....	49
Figure 29 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal.....	50
Figure 30 : Détection des virus grippaux en région Antilles Guyane	51
Figure 31 : Détection des virus grippaux en Guyane.....	52
Figure 32 : Répartition des virus grippaux détectés en région Antilles-Guyane	53
Figure 33 : Répartition des virus grippaux détectés en Guyane	53
Figure 34 : Répartition des virus grippaux détectés aux Antilles (Martinique et Guadeloupe).....	54

Tableaux

Tableau 1 : Bilan des prélèvements analysés par les CNR-IPP et HCL.....	18
Tableau 2 : Bilan des prélèvements analysés par le CNR-IPG	19
Tableau 3 : Sérums de furets post-infectieux et souches reçus par les CNR-IPP et -HCL	22
Tableau 4 : Résultats tests phénotypiques de sensibilité à l'oseltamivir (CNR-IPP et -HCL).....	24
Tableau 5 : Composition du Réseau des GROG par catégorie de vigie et par région	26
Tableau 6 : Liste des pathogènes	28
Tableau 7 : Distribution par âge des patients– Réseau GROG	39
Tableau 8 : Distribution par tranche d'âge et par type viral - Réseau GROG	39
Tableau 9 : Statut vaccinal - Distribution des virus grippaux détectés au CNR.....	40
Tableau 10 : Statut vaccinal - Distribution par tranche d'âge	40
Tableau 11 : Distribution par âge des patients – Région Antilles Guyane	54
Tableau 12 : Distribution par tranche d'âge et par type viral – Région Antilles Guyane	55

Résumé analytique

En France métropolitaine, la saison de surveillance 2012-2013 a été marquée par une épidémie grippale d'intensité élevée et plus longue que les années précédentes (10 semaines) en raison de la juxtaposition d'une épidémie de virus de type A, H1N1pdm09 et H3N2, suivie d'une épidémie de type B. Environ 50 % des 2713 prélèvements reçus au CNR ont été rendus positifs pour l'un des 3 virus ayant circulé.

Pour la région Antilles Guyane, si les épidémies grippales aux Antilles se rapprochent de la situation observée en métropole (démarrage en semaine S52/2012 et durée de 10 à 12 semaines), avec co-circulation virale et prédominance des virus de type A, les épidémies sont restées d'intensité modérée cette saison.

La Guyane, quant à elle, se distingue avec une épidémie toujours plus tardive (démarrage en semaine S10/2013) et prolongée sur 17 semaines même si elle est restée d'intensité très modérée. Sur le plan virologique, l'épidémie de Guyane s'est également distinguée par une large prédominance de virus de type B.

Sur le plan international, l'émergence du coronavirus MERS-CoV en Arabie Saoudite et du virus grippal H7N9 en Chine, a mobilisé l'ensemble de la communauté internationale pour prendre en charge tout voyageur présentant une symptomatologie respiratoire sévère à son retour. Le CNR a mis en place les outils nécessaires à la détection de ces nouveaux virus et a aussi réalisé la diffusion de la technique et du contrôle positif en ce qui concerne le MERS-CoV aux laboratoires hospitaliers chargés de l'investigation des cas possibles.

Dans ce contexte, le CNR a participé à la détection des 2 cas français hospitalisés à Lille. Les investigations scientifiques effectuées autour de ces deux cas ont permis de documenter les sites et la cinétique d'excrétion virale soulignant l'importance des prélèvements respiratoires profonds pour la détection. Elles ont également permis de préciser la période d'incubation dans le cadre d'une transmission interhumaine encore inefficace à grande échelle à ce jour.

1 Missions et organisation du CNR

1.1 Missions et objectifs

Depuis le 30 décembre 2011, date de parution au Journal Officiel, le Centre National de Référence des virus influenzae chargé de la surveillance des épidémies associées aux virus respiratoires est composé du CNR coordonnateur hébergé par l'unité de génétique moléculaire des virus à ARN à l'Institut Pasteur à Paris (CNR-IP) et de deux laboratoires associés localisés aux Hospices Civils de Lyon (CNR-HCL) et à l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (CNR-IPG).

Le rapport annuel 2012-2013 repose sur l'activité des trois laboratoires composant le CNR de la semaine S27/2012 à la semaine S26/2013 avec les données de surveillance de l'ensemble de la période.

Suite à l'émergence des deux nouveaux virus, le coronavirus MERS-CoV en septembre 2012 et du virus grippal aviaire A(H7N9) en mars 2013, le CNR a dû se mettre en ordre de marche pour faire face à d'éventuels cas suspects.

Dans les deux cas, le CNR a participé à la mise en place avec les instances gouvernementales aux recommandations pour le signalement, la confirmation virologique et la prise en charge des cas. Pour le MERS-CoV, le CNR a diffusé la technique publiée dans Eurosurveillance (Corman et al. 2012) et envoyé le contrôle positif qu'il a développé aux laboratoires capables d'analyser des prélèvements de cas possibles.

Le CNR a également préparé une technique spécifique de détection par qRT-PCR du virus A(H7N9) pouvant être diffusée si besoin aux mêmes laboratoires.

La description détaillée est donnée en annexe 1

1.1.1 Equipes

Une description détaillée des équipes et l'organigramme des 3 laboratoires du CNR sont donnés en annexe 2.

1.1.2 Locaux et équipements

Les plans des locaux et la liste des équipements disponibles sont donnés en annexes 3 et 4 pour chacun des 3 laboratoires du CNR.

1.1.3 Démarche qualité

➤ CNR-IPP

Pour les CNR-IPP et CNR-IPG, comme pour les autres CNR de l'Institut Pasteur une démarche qualité a été initiée depuis 1996, suivant le référentiel GBEA et, depuis 2008, dans le cadre des inspections ANSM, les exigences des arrêtés du 30 juillet 2004 et du 16 juillet 2007 liés aux *Micro-Organismes et Toxines (MOT)*.

Le Service Qualité, Environnement et Développement Durable (QE-DD) apporte ses ressources et son expertise dans l'accompagnement du projet d'accréditation ISO 15189 des Laboratoires de Références et d'Expertise (CNR et CIBU) conformément à l'ordonnance du 13 janvier 2010 relative aux activités de biologie médicale.

Une politique Qualité, Sécurité, Environnement pour l'Institut Pasteur a été formalisée, validée par la Direction Générale, communiquée à l'ensemble du personnel en 2008 et mise à jour en 2011.

Etat d'avancement de la mise en place d'un système de management de la qualité au CNR-IPP dans le cadre d'une demande d'accréditation auprès du COFRAC selon la norme NF EN ISO 15189 :

Bilan des actions réalisées en 2012 :

Paris :

- Mise en place du Groupe de Travail Technique pour les validations de méthode
- Formations : ISO 15189 (2 collaborateurs par LRE), WebCampus et Kalilab
- Direction déléguée aux Ressources Techniques et à l'Environnement et Direction Médicale : Lettre d'engagement de moyens pour le projet ISO 15189
- Audits internes ISO 15189
- Recrutement ingénieur qualité
- Politique et manuel qualité LRE-Multi-Site (LRE-MS)
- Dépôt du dossier COFRAC (Novembre 2012)
- Installation de Kalilab (module Fiche Qualité)

RIIP :

- Démarrage de l'accompagnement QE-DD/PREISO sur les CNR de la Guyane

➤ **Perspectives 2013-2014 :**

- Audit interne qualité et technique ISO 15189 : Avril 2013
- Revue de direction LRE-MS : 26 Avril 2013
- Audit initial COFRAC : Octobre 2013
- GT technique LRE 1ère et 2ème vague : Juin et octobre 2013
- Finalisation des dossiers de validation de méthode (1ère et 2ème vagues) : Décembre 2013
- Revues qualité LRE : Janvier 2014
- Audit interne : Mars 2014
- Revue de direction LRE-MS : Avril 2014

➤ **CNR-HCL**

Pour le CNR-HCL, comme pour les CNR-IPP et CNR-IPG une démarche qualité a été initiée suivant le référentiel GBEA puis dans le cadre des inspections ANSM et des exigences des arrêtés du 30 juillet 2004 et du 16 juillet 2007 liés aux Micro-Organismes et Toxines (MOT).

Le CNR-HCL fait partie intégrante du Laboratoire de Biologie Médicale Multi Sites (LBMMS) du CHU de Lyon au sens de l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 portant réforme de la biologie médicale. La politique Qualité pour les HCL a été formalisée, validée par la Direction Générale, communiquée à l'ensemble du personnel en juin 2013.

Depuis 2011, nous travaillons à la mise en place d'un système de management de la qualité dans le cadre d'une demande d'accréditation auprès du COFRAC selon la norme NF EN ISO 15189. En pratique, au sein du LBMMS, les premières disciplines qui ont déposé leur dossier au COFRAC pour l'accréditation partielle ont été la biochimie, l'hématologie et l'immunologie (octobre 2013). Les autres disciplines, dont la Virologie et les CNR déposeront leurs dossiers de façon échelonnée à partir d'octobre 2014 avec pour objectif une accréditation totale au 1er novembre 2016. Le laboratoire s'est équipé du logiciel Kalilab pour la gestion documentaire, gestion du personnel et des équipements.

Le laboratoire de Virologie dont le CNR-HCL a été audité à plusieurs reprises par des sociétés pour lesquelles il est prestataire (Activités du laboratoire de Virologie en 2011 et 2012 et activités du CNR-HCL en 2010-2012-2014). Le laboratoire de Virologie dont le CNR-HCL pourra être audité en tant que site du LBMMS par le COFRAC en avril 2014. En parallèle, un audit interne a été réalisé le 25/06/2013.

➤ **CNR-IPG**

Conformément à l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative aux activités de biologie médicale, le CNR s'est engagé dans le processus d'accréditation au référentiel NF EN ISO 15189, avec pour objectif une accréditation partielle en 2014 et quasi complète avant le 1er novembre 2016. Le laboratoire bénéficie de l'accompagnement méthodologique et technique du service Hygiène, Sécurité, Qualité et Environnement de l'Institut Pasteur à Paris et d'un prestataire de service qui suit les avancées des laboratoires dans ce processus d'accréditation. Le premier audit Cofrac pour le laboratoire de Virologie de l'IPG est prévu en février 2014.

Conformément à l'article L 5139-1 du code de Santé Publique et à l'arrêté du code de la Santé Publique, en date du 26 avril 2012, fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT), le laboratoire associé dispose d'une autorisation de détention, d'acquisition et de mise en œuvre de l'ARN synthétique H5 par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM).

2 Activités d'expertise

La description des techniques disponibles est présentée en annexe 5

2.1 Évolutions des techniques

Les techniques de détection des virus saisonniers n'ont pas évolué depuis la saison dernière sauf au laboratoire associé en Guyane où comme envisagé précédemment les techniques moléculaires de détection et de sous typage des virus influenza saisonniers adaptées des techniques du CDC ont été remplacées par les techniques du CNR coordonnateur. Dans le même temps les techniques moléculaires de détection du virus respiratoire syncytial (VRS) ainsi que de détection de la mutation H275Y ont été mises en place à l'IPG.

L'évolution génétique des virus de type A et de type B ne s'est pas traduite par des changements des régions cibles des qRT-PCR qui n'ont donc pas nécessité d'adaptation. De façon occasionnelle, les virus de sous-type A(H3) cultivent difficilement sur cellules MDCK et hémagglutinent faiblement les globules rouges de cobaye. Nous utilisons la RT-PCR et les tests ELISA pour détecter la présence de virus dans les cultures. La caractérisation antigénique de ces virus ne peut être réalisée par inhibition d'hémagglutination.

En raison de l'émergence des virus A(H7N9) et MERS-CoV, le panel de détection par qRT-PCR s'est enrichi avec la mise en place des techniques de détection spécifique de la H7, de la N9 et des cibles ORF1a, ORF1b et UpE du nouveau coronavirus MERS-CoV.

2.1.1 Techniques de détection

Développement de la technique de détection spécifique du virus A(H7N9). Le contrôle positif a également été développé et est produit par le CNR. Un protocole complet accompagné de son contrôle positif peut être distribué si besoin.

Mise en place de la technique de détection du nouveau coronavirus MERS-CoV publié par Corman et al. en 2012 (Eurosurveillance, Volume 17, Issue 49, 06 December 2012; Eurosurveillance, Volume 17, Issue 39, 27 September 2012). Le contrôle positif a été développé et est produit par le CNR. Suite à l'identification des deux cas français d'infection par ce virus et à la demande du Ministère de la Santé, le CNR a diffusé la technique de détection et fourni le contrôle positif aux laboratoires hospitaliers désignés par les ARS pour la réalisation du diagnostic des cas possibles d'infection par le virus dans leur région. La liste des laboratoires habilités est présentée en annexe 7.

2.1.2 Techniques de sérologie

Afin de réaliser l'étude de séroprévalence du MERS-CoV chez des cas contacts des deux patients infectés français, qu'il s'agisse du personnel soignant ou de l'entourage des patients, le CNR s'est attaché à la mise en place de tests sérologiques. Ainsi, disposant d'isolats du MERS-CoV, le CNR a mis en place une technique de microneutralisation ainsi que la technique d'immunofluorescence pour la détection des anticorps spécifiques du MERS-CoV. Le développement d'une méthode plus facile à mettre en œuvre à haut débit et faisant appel à l'emploi de protéines recombinantes (N et fragment de S) est en cours avec l'aide la plate-forme "protéines recombinantes" et des équipes de recherche de l'Institut Pasteur.

2.1.3 Evaluation d'un kit de détection rapide par chromatographie

Le CNR a réalisé l'évaluation du kit de détection rapide bioNexia Influenza A/B commercialisé par Biomérieux, pour le nouveau variant A(H3N2) détecté aux Etats-Unis en 2011, A/indiana/08/2011. Les résultats de détection de ce virus ont été comparés à ceux obtenus avec le virus saisonnier A/Victoria/361/2011. Les seuils de détection sont de $2,5.10^3$ pfu/mL pour A/indiana/08/2011 et 5.10^4 pfu/mL pour A/Victoria/361/2011.

2.1.4 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Les techniques de détection par qRT-PCR des virus grippaux sont accessibles sur le site de l'OMS :

http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/molecular_diagnosis_influenza_virus_humans_update_201211.pdf.

Elles peuvent être ainsi mises en place par les laboratoires hospitaliers qui le souhaitent, notamment pour le sous-typage des virus de type A et plus particulièrement des virus A(H3). En effet, depuis la pandémie de 2009, de nombreux laboratoires hospitaliers utilisent des techniques ou des kits commercialisés capables de détecter spécifiquement les virus A(H1N1)pdm09 mais pas les virus A(H3N2). Ceci peut induire des biais dans les analyses épidémiologiques.

Le CNR produit ses propres contrôles positifs (ARN) pour chaque nouvelle méthode de détection mise en place, et plus particulièrement pour les virus émergents pour lesquels il est plus difficile d'obtenir rapidement la souche. La technologie de production d'ARN synthétique, si besoin à partir d'un gène synthétique, permet de disposer dans les meilleurs délais (environ 3 semaines), d'une technique complète de détection comprenant un contrôle stable facilement utilisable par les laboratoires.

Pour la validation de toute nouvelle technique, les CNR s'échangent des souches, contrôles positifs et sets d'amorces afin de tester la méthode sur différents plateaux techniques. Des protocoles sont ainsi optimisés sur plusieurs plateformes pour être utilisés par le plus grand nombre de laboratoires hospitaliers.

La liste des échanges est présentée dans l'annexe 7

2.2 Analyses virologiques au cours de la saison 2012-2013

2.2.1 Collection et analyses virologiques d'échantillons cliniques

2.2.1.1 Analyses virologiques d'échantillons cliniques humains (surveillance saisonnière)

L'ensemble des laboratoires du CNR des virus influenzae a reçu 6039 prélèvements et détecté 3163 virus grippaux.

➤ CNR-IPP et HCL

En France métropolitaine, au sein des 5215 prélèvements reçus par les CNR-IPP et -HCL, 2829 (54,2 %) virus grippaux ont été détectés. Ces détections positives proviennent de la surveillance des GROG (n= 1967 ; 69,5 %), des laboratoires des armées (n=23 ; 0,8 %), des laboratoires hospitaliers (n=768 ; 27,1 %), de l'étranger (n=63 ; 2,3 %), des EHPAD (n=8 ; 0,3%). Les virus grippaux se répartissent de la manière suivante : 1424 virus grippaux de type A, dont 777 (54,6 %) virus H1N1pdm09, 633 (44,4 %) virus H3N2, et 14 (1 %) virus non sous-typés), et 1404 virus de type B dont 1249 (89 %) virus B-Yamagata, 126 (9 %) virus B-Victoria et 29 (2 %) virus non sous-typés.

➤ CNR-IPG

En région Antilles-Guyane, le CNR-IPG a reçu 824 prélèvements en provenance respectivement de Guyane (n= 684 ; 83%), de Martinique (n= 69 ; 8.4%) et de Guadeloupe, (n= 71 ; 8.6%). Ces prélèvements proviennent respectivement du réseau sentinelle (n= 322 ; 39,1%), de laboratoires hospitaliers (n=360 ; 43,7%) et de laboratoires privés dont le laboratoire d'analyses médicales de l'IP Guyane (n=142 ; 17,2%).

Au total, 334 virus grippaux ont été détectés, répartis de la façon suivante : 121 (36,2%) virus grippaux de type A parmi lesquels 89 (73,6%) virus H1N1pdm09, 30 (24,8%) virus H3N2, et 2 (1,6%) virus non sous-typés et 213 (63,8%) virus de type B parmi lesquels 73 (34,3%) B appartenant au lignage Victoria, 126 (59,1%) virus B appartenant au lignage Yamagata, et 14 (6,6%) virus B non sous-typés.

Nbde de plvts / souches	Plvts positifs (A ou B)	Provenance Surveillance Population	Virus type A						Virus type B										
			TOTAL A	non sous typés	H1N1 pdm09		H3N2		TOTAL B	non sous typés	B Victoria			B Yamagata					
					PCR	isolt	PCR	isolt			Total Vic	PCR	isolt	Total Yam	PCR	isolt			
2530	1338	Total GROG/Hôpitaux (FN)	756	8	407	140	341	168	574	0	51	52	37	522	522	183			
2548	1397	Total GROG/Hôpitaux (FS)	607	6	279	264	198	215	794	29	70	67	52	698	649	610			
1857	971	GROG (FN)	482	3	258	90	221	110	486	0	37	37	31	449	449	143			
2110	996	GROG (FS)	360	4	207	165	149	120	639	27	55	55	42	560	560	455			
673	367	Lab. Hospitaliers (FN)	274	5	149	50	120	58	88	0	15	15	6	73	73	40			
438	401	Lab. Hospitaliers (FS)	247	2	72	99	49	95	155	2	15	12	10	138	89	105			
Alsace																			
6	5	CH Strasbourg	4	2	2	2	0	0	1	0	1	1	0						
7	0	CH Mulhouse							0										
Basse Normandie																			
86	77	CH Caen	55	0	25	18	30	24	22	4			4	18	18	18			
Bourgogne																			
4	4	CH Dijon	1	0	1	1	0	0	3				3			3	0		
2	2	CH Le Mans	1	0	0	0	1	0	1				1			1			
Bretagne																			
12	10	CH Quimper	10	3		7		1											
20	10	CH Rennes	10	1	8	2	1	0	0										
4	0	CH Pontivy																	
Centre																			
12	3	CHRU Tours	3	0	1	0	2	0	0										
8	8	CH Orléans	7	0	7	0	0	0	1				1	1	0				
Champagne Ardenne																			
4	0	CH Troyes	0							0									
2	2	CH Reims	1	0	0	0	1	1	1	1			1	1					
Franche Comté																			
1	0	CH Belfort	0							0									
Haute Normandie																			
5	5	CH Rouen	5	0	0	0	5	3	0										
1	0	CH Montivilliers	0							0									
Ile de France																			
12	1	CH Bichat	0							1				1	1				
2	0	CH Cochin	0							0									
17	11	HEGP	10	0	1	0	9	8	1	1			1	1					
5	1	CH Necker	1	0	0	0	1	1	0										

Nbre de plvts / souches	Plvts positifs (A ou B)	Provenance Surveillance Population	Virus type A						Virus type B								
			TOTAL A	non sous typés	H1N1 pdm09		H3N2		TOTAL B	non sous typés	B Victoria			B Yamagata			
					PCR	isolt	PCR	isolt			Total Vic	PCR	isolt	Total Yam	PCR	isolt	
38	38	CH Pitié Salp.	28	1	18	4	9	4	10			1	1	0	9	9	3
1	1	CH Robert Debré	1	0	0	0	1	0	0								
12	10	CH Saint Louis	9	0	1	1	8	4	1			1	1	0			
32	28	CH Tenon	19	0	13	1	6	0	9						9	9	1
58	56	CH Trousseau	36	0	25	13	11	7	20	0		4	4	3	16	16	11
3	0	CH Versailles	0						0								
2	2	CH Longjumeau	2	0	2	0	0	0	0								
2	0	CH Courcouronnes	0						0								
26	25	CH Ambroise Paré	17	0	7	4	10	4	8	0		1	1	0	7	7	5
3	2	CH Antoine Bécclère	2	0	2	0	0	0	0								
1	1	Colombes	1				1	0	0								
1	0	Hôpital de Neuilly	0														
5	0	CH Avicenne	0														
7	0	CH Robert Ballanger	0														
4	0	CH Montreuil	0														
2	2	Polyclinique Aubervilliers	0						2						2	2	
2	2	CH Henri Mondor	2	0	2	1	0	0	0								
0	0	CH Paul Brousse	0														
1	0	Inst. Gustave Roussy	0														
4	1	CHI Villeneuve St Georges	0						1				1	1			
1	1	Argenteuil	1	0	0	0	1	1	0								
1	0	GFH Eaubonne	0														
2	0	CH Cergy-Pontoise	0														
Nord Pas de Calais																	
172	3	CH Lille	3	0	3	0	0	0									
8	0	CH Valenciennes	0														
3	0	CH Douai	0														
2	0	CH Béthune	0														
2	1	CH Lens	0						1						1	1	1
Pays de Loire																	
44	31	CH Nantes	31	1	17	0	13	0									
7	5	CH Angers	1	0	0	0	1	0	4			0		0	4	4	1
4	0	CH Cholet	0														
1	1	CHD Vendée Roche/Yon	1	0	1	0	0	0									
Picardie																	
12	13	CH Amiens	12	0	10	3	2	0	1	0		0	0	0	1	1	0

Nbre de plvts / souches	Plvts positifs (A ou B)	Provenance Surveillance Population	Virus type A						Virus type B								
			TOTAL A	non sous typés	H1N1 pdm09		H3N2		TOTAL B	non sous typés	B Victoria			B Yamagata			
					PCR	isolt	PCR	isolt			Total Vic	PCR	isolt	Total Yam	PCR	isolt	
Aquitaine																	
16	14	Bordeaux (FS)	13		3	1	10	6	1					1	1		
Auvergne																	
2	1	Aurillac	1		1	1											
10	9	Clermont-Ferrand*	8		2		6	2	2					2	2	1	
Languedoc-Roussillon																	
6	6	Montpellier	0						6		3	3		3	3		
Limousin																	
12	12	Limoges	8		4	4	4	4	4		2	2	2	2	2	2	
Midi-Pyrénées																	
2	2	Toulouse	2		2	2			0								
1	0	Valence	0						0								
PACA																	
4	2	Aix-en-Provence	1		1				1					1			
10	10	Corse	6		5	5	1		4					4	4	1	
69	67	HIA Laveran	31		25	16	6	4	33	2				34	34	25	
31	31	HIA Toulon + CHU	7		6	5	1		24		5	5	3	19	19	17	
3	1	Fréjus	0						1					1			
Poitou-Charentes																	
107	102	Poitiers (FS)	69			33		36	33		1		1	32		32	
3	0	CH Chatellerault	0						0								
Rhône-Alpes																	
6	6	Annecy	5		1	1	4	4	1					1	1		
5	0	Bourgoin-Jallieu	0						0								
3	1	Chambéry	1				1	1	0								
6	5	Grenoble	5		4	1	1	1	0								
96	91	Lyon	67		5	27	7	34	24		2		2	22	5	19	
49	41	St-Etienne	23	2	13	3	8	3	18		2	2	2	16	16	8	
39	23	Armées	16	0	10	8	6	4	7	1	2	1	2	5	5	4	
6	1	HIA Brest	1	0	0		1	0	0								
2	0	HIA Metz	0						0								
7	1	HIA Bégin	0	0	0	0	0	0	1					1	1	0	
2	2	HIA Percy	2	0	0	0	2	1	0								
10	10	HIA Laveran	7		5	3	2	2	3	1	1		1	2	2	2	
8	8	HIA Toulon	5		4	4	1	1	3		1	1	1	2	2	2	

Nbre de plvts / souches	Plvts positifs (A ou B)	Provenance Surveillance Population	Virus type A						Virus type B							
			TOTAL A	non sous typés	H1N1 pdm09		H3N2		TOTAL B	non sous typés	B Victoria			B Yamagata		
					PCR	isolt	PCR	isolt			Total Vic	PCR	isolt	Total Yam	PCR	isolt
1	1	Lyon-Bron	1		1	1			0							
3	0	HMC Bouffard (Djibouti)	0						0							
11	8	EHPAD (FS)	5	0	0	0	5	5	3	0	0	0	0	3	3	2
2	2	Château-Porcien	2				2	2	0							
2	0	Decazeveille	0						0							
1	1	Marseille	0						1					1	1	1
3	2	Saint Martin de Valguargues	0						2					2	2	1
3	3	Villefranche de Rouergue	3				3	3	0							
87	63	Total étranger	40	0	22	6	18	2	23	0	2	2	1	21	21	13
48	41	Antilles / Guyane	19	0	19	5	0	0	22	0	2	2	1	20	20	13
36	19	La Réunion	18				18	2	1					1	1	
2	2	Martinique	2		2	1			0							
1	1	CIRE Océan Indien	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2599	1384	TOTAL général (FN)	779	8	427	145	344	169	597	0	54	54	38	543	543	196
2616	1445	TOTAL général (FS)	645	6	291	273	224	225	804	30	71	468	54	706	651	165

Tableau 1 : Bilan des prélèvements analysés par les CNR-IPP et HCL

➤ **GROG CNR-IPP : détection de 9 cas d'infections mixtes :**

Virus grippaux A + A :

- 2x A(H1N1)pdm09 / A(H3N2)

Virus grippaux A + B :

- 4x A(H1N1)pdm09 / B Yamagata
- 1x A(H1N1)pdm09 / B Victoria
- 1x A(H3N2) / B Yamagata
- 1x A(H3N2) / B Victoria

➤ **GROG CNR-HCL : détection de 6 cas d'infections mixtes :**

Virus grippaux A + B :

- A(H1N1)pdm09 / B Victoria
- A(H1N1)pdm09 / B Yamagata
- A(H3N2) / B Yamagata

Virus Grippaux B : Lignages Yamagata + Victoria (3 patients)

Hôpital de Clermont-Ferrand : détection d'1 cas d'infection mixte : virus grippaux A(H3N2) / A(H1N1)pdm09

Nbre de plvts / souches	Plvts positifs (A ou B)	Provenance Surveillance Population	Virus type A						Virus type B							
			TOTAL A	non sous typés	H1N1 pdm09		H3N2		TOTAL B	non sous typés	B Victoria			B Yamagata		
					PCR	isolt	PCR	isolt			Total Vic	PCR	isolt	Total Yam	PCR	isolt
684	240	Guyane	60		49		11		180	12	73	37	0	95	51	0
357	133	Hôpital/Centre de Santé	37		32		5		96	8	37	37		51	51	
310	117	Hôp. Cayenne	36		31		5		81	6	35	35		40	40	
25	10	CDS Iracoubo	0						10	1	1	1		8	8	
19	6	CDS Maripasoula	1		1				5	1	1	1		3	3	
1	0	CDS St Georges	0						0							
2	0	Hop. Saint-Laurent	0						0							
120	30	Laboratoires privés	7		4		3		23		1			22		
207	77	Surveillance sentinelle	16		13		3		61	4	35			22		
69	46	Martinique	23	1	9	0	13	0	23	2	0	0	0	21	0	0
22	22	Laboratoires privés	12	0	3	0	9	0	10					10	0	0
47	24	Surveillance sentinelle	11	1	6	0	4	0	13	2				11	0	
71	48	Guadeloupe	38	1	31	0	6	0	10	0	0	0	0	10	0	0
3	3	Hôp. Pointe-à-Pitre	3		3				0							
68	45	Surveillance sentinelle	35	1	28	0	6	0	10	0				10	0	
322	146	Total sentinelle	62	2	47	0	13	0	84	6	35	0	0	43	0	0
502	188	Total Non Sentinelle	59	0	42	0	17	0	129	8	38	37	0	83	51	0
824	334	Total Général	121	2	89	0	30	0	213	14	73	37	0	126	51	0

Tableau 2 : Bilan des prélèvements analysés par le CNR-IPG

2.2.1.2 Analyses virologiques d'échantillons cliniques humains (virus émergents)

Le nouveau coronavirus, MERS-CoV

➤ CNR-IPP

204 prélèvements reçus pour suspicion d'infection par le nouveau coronavirus MERS-CoV. Parmi ces 204 prélèvements, 94 prélèvements correspondent aux échantillons reçus au CNR-IPP des deux patients positifs pour le MERS-CoV de Lille. Les 110 autres prélèvements proviennent de 40 patients suspectés d'être infectés par le MERS-CoV à leur retour de la péninsule arabique. Leur répartition selon le pays de provenance est la suivante :

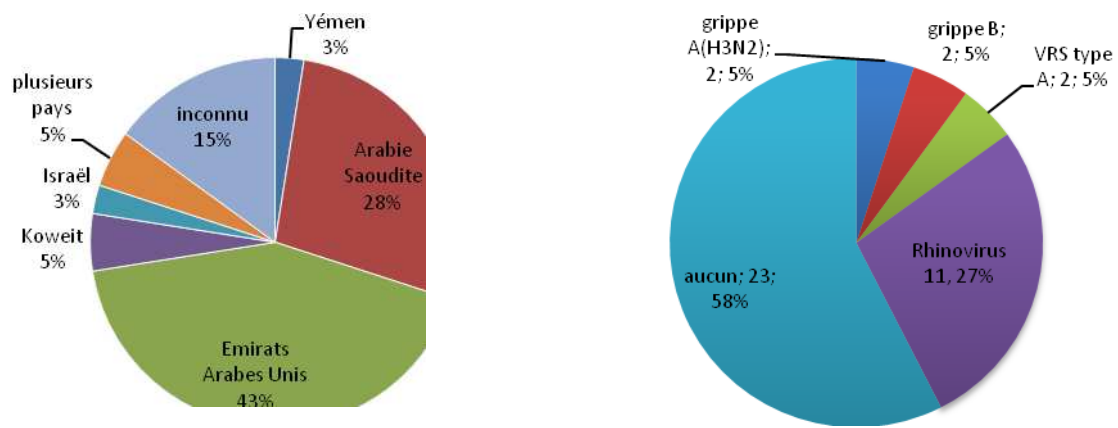


Figure 1 : Suspicion MERS-CoV - Répartition de la provenance - Autres étiologies

Parmi ces 40 cas suspects et pour 17 patients, d'autres étiologies ont été détectées, parmi lesquelles majoritairement du rhinovirus (64%) ainsi que du VRS type A (12%) et des virus grippaux de type A(H3N2) (12%) ou de type B (12%).

➤ CNR-HCL

Le CNR-HCL a traité 12 suspicions qui se sont révélées négatives pour le MERS-CoV et positives pour des étiologies plus fréquentes, Grippe A ou B, virus Parainfluenza et Picornavirus.

Le nouveau virus de grippe aviaire A(H7N9)

Les CNR-IPP et HCL ont reçu 13 prélèvements pour suspicion d'infection par le virus influenza aviaire A(H7N9). L'ensemble des détections s'est avérée négative.

2.2.1.3 Collection de souches de virus influenza aviaire A(H5N1)

Le CNR-IPP a reçu de l'Institut Pasteur du Cambodge, 5 souches de virus A(H5N1), issues de prélèvements humains et de volailles (canards et poulets).

2.2.1.4 Collection de prélèvements provenant d'études ou de firmes

➤ CNR-IPP

- o Fibebiotics en mai 2013, 1216 sérums

➤ CNR-HCL

- o FLUVAC 01 & FLUVAC 02, respectivement 50 et 444 échantillons
- o NOVARTIS :
 - **A** : 6 H1N1pdm09 – 8 H3N2 (A/Hawai/22/2012 – A/Ohio/2/2012 – A/Texas/50/2012) – 1 H7N9 (A/Shanghai/2/2013)
 - **B** : 4 Lignée Yamagata (B/Brisbane/36/2012 – B/Massachusetts/2/2012) 1 Lignée Victoria (B/Brisbane/60/2008)
- o GSK :
 - **A** : 1 H1N1pdm09 (A/Christchurch/16/2010) - 3 H3N2 (A/Victoria/361/2011 - A/Texas/50/2012)
 - **B** : 2 Lignée Yamagata (B/Massachusetts/2/2012) 1 Lignée Victoria (B/Brisbane/60/2008)
- o Exercice BIOTOX :
3 échantillons (V1 : culture cellulaire), (V2, V3 : extraits AN) :
Recherche Virus Grippaux & Coronavirus
 - **V1** : Virus grippal A H1N1pdm09 – Sensible Oseltamivir (Coronavirus négatif)
 - **V2** : Virus Grippal A H1N1pdm09 Sensible Oseltamivir + Virus Grippal H5 (Coronavirus négatif)
 - **V3** : Virus grippaux (A&B) négatif – Coronavirus négatif.

2.2.1.5 Collection de souches, antigènes de référence et immun-sérums

En tant que National Influenza Center (NIC) de l'OMS, les laboratoires du CNR sont destinataires chaque année, des sérums de mouton et des antigènes correspondants du kit de l'OMS dirigés contre les souches de référence entrant dans la composition vaccinale.

Les CNR-IPP et -HCL ont reçu du CCOMS de Londres (Dr J. McCauley) les souches de virus grippaux humains de référence pour la saison, dont les prototypes vaccinaux (Tableau 3). Ces souches sont produites sur lignée cellulaire (MDCK) et servent de référence pour la caractérisation des isolats au cours de la surveillance et de témoins positifs pour les tests de détection (type ELISA) et les tests de qRT-PCR.

Les CNR-IPP et -HCL ont reçu du CCOMS de Londres (Dr J. McCauley) des sérums de furet préparés vis-à-vis des souches de virus grippaux humains de référence. Les sérums sont conservés congelés à -20°C (Tableau 3) .

	Souche virale	Immun-sérum
A(H1N1)pdm09		
A/St. Petersburg/100/2011	2012-13	2012-13
A/St. Petersburg/27/2011	2012-13	2012-13
A(H3N2)		
A/Massachusetts/2/2012	2012-13	2012-13
A/Athens/112/2012	2012-13	2012-13
A/Texas/50/2012	2012-13	2012-13
A/Victoria/361/2011	2011-12	2012-13
B-Yamagata		
B/Hong Kong/3577/2012	2012-13	2012-13
B/Wisconsin/1/2010	2011-12	2012-13
B-Victoria		
B/Hong Kong/514/2009	2010-11	2012-13
B/Brisbane/60/2008	2010-11	2012-13

Tableau 3 : Sérums de furets post-infectieux et souches reçus par les CNR-IPP et -HCL

En début de saison, les souches et sérums (furets) sélectionnés sont testés par inhibition de l'hémagglutination (IHA) en présence de globules rouges de cobaye. Les nouvelles souches et sérums reçus en cours d'année subissent les mêmes tests.

Une description détaillée des collections d'antigènes, souches et immun-sérums est donnée en annexe 6.

2.2.2 Sensibilité aux antiviraux

Les virus A(H1N1)pdm09 et A(H3N2) sont naturellement résistants aux adamantanes et sensibles aux inhibiteurs de neuraminidase (INA). Les virus de type B sont aussi naturellement sensibles aux INA. L'évaluation de la sensibilité aux antiviraux des souches circulantes récentes a été essentiellement basée tout au long de la saison sur leur caractérisation génétique par séquençage, pyroséquençage ou sur la détection par RT-PCR en temps réel de la présence ou absence de mutations connues pour conférer une diminution de la sensibilité. Un test fluorimétrique permet le dosage de l'activité enzymatique de la neuraminidase et ainsi permet d'apprécier par une méthode phénotypique les variations de sensibilité d'un virus grippal aux INA.

2.2.2.1 Tests génétiques

Résistances aux adamantanes

Le séquençage du gène M pour les virus de type A permet de détecter la présence de mutations conférant une résistance aux adamantanes (L26F, V27A/D, A30T, S31N, G34E): tous les virus testés A(H1N1)pdm09 (n=38 CNR-IPP) et A(H3N2) (n=46 CNR-IPP) présentaient une asparagine en position 31 de la séquence de la protéine M2 associée à une résistance à l'amantadine/rimantadine.

Résistance aux inhibiteurs de la neuraminidase (INA)

➤ A(H1N1)pdm09

Au CNR-IPP, la recherche de la mutation H275Y connue pour conférer une résistance élevée à l'oseltamivir mais pas au zanamivir, a été réalisée sur un échantillonnage de prélèvements positifs pour le virus A(H1N1)pdm09 par pyroséquençage, séquençage du gène NA ou encore au moyen de RT-PCR temps réel différentielle avec des sondes spécifiques : 63 isolats et/ou prélèvements ont ainsi été testés. 45 isolats et/ou prélèvements provenaient de patients hospitalisés en service de réanimation, 10 provenaient de patients du réseau GROG et 8 du CNR-IPG.

La mutation H275 Y a été détectée uniquement pour les prélèvements de 3 patients chez lesquels le virus a été détecté au delà de la durée habituelle du traitement. Ces 3 patients présentaient tous une immunodépression suite à la prise d'immunosuppresseur en raison d'une greffe.

L'isolement du virus n'ayant pas été possible en raison de la faible charge virale des prélèvements, l'analyse phénotypique de sensibilité aux INA n'a pas pu être réalisée.

La mise en place au CNR-IPG de la recherche moléculaire de la mutation H275Y associée pour les virus H1N1pdm09 à une résistance à l'oseltamivir (par qRT-PCR différentielle) a rendu possible l'évaluation génotypique de la résistance à l'oseltamivir pour 8 prélèvements A(H1N1)pdm09 : aucune mutation H275Y n'a été détectée.

➤ A(H3N2) saisonniers

Le séquençage du gène N2 permet de détecter la présence de mutations conférant une réduction de la sensibilité à l'oseltamivir E119V, R292K et N294S. Parmi les 54 prélèvements testés, la mutation R292K a été détectée à partir d'un prélèvement hospitalier, chez un enfant admis en réanimation pédiatrique. Malheureusement, l'isolement de ce virus n'a pas pu être réalisé pour effectuer le test phénotypique.

➤ Virus de type B

Le séquençage du gène NA permet de détecter la présence de mutations conférant une réduction de la sensibilité à l'oseltamivir R150K, D197E/N, I221T et G407S. Aucune de ces mutations n'a été identifiée parmi les 34 virus de type B séquencés, 23 B-Yamagata et 11 B-Victoria.

2.2.2.2 Test fluorimétrique (phénotypique)

Parmi les virus A(H1N1)pdm09, A(H3N2) et B dont la sensibilité aux INA a été testée (n = 135), seuls 3 ont présenté une réduction de sensibilité à l'oseltamivir (Tableau 4).

	GROG/Hôpital		Autres	
	Sen	Res	Sen	Res
IPP				
A(H1N1)pdm09	16	0	1	0
A(H3N2)	23	0	0	0
B	31	0	4	0
tot	70	0	5	0
HCL				
A(H1N1)pdm09	20	1		
A(H3N2)	21	2		
B	19	0		
tot	60	3	0	0
TOTAL	0	0	0	0

Tableau 4 : Résultats tests phénotypiques de sensibilité à l'oseltamivir (CNR-IPP et -HCL)

Il s'agissait de :

- Un virus A(H1N1)pdm09 isolé d'une patiente de 35 ans atteinte de mucoviscidose greffée bi-pulmonaire et traitée par Tamiflu pendant 7 jours sans amélioration du tableau clinique. L'analyse phénotypique du virus A/LyonCHU/10.165/2013 a révélé une sensibilité très réduite à l'oseltamivir (IC_{50} oseltamivir = 152 nM) en cohérence avec la détection dans la NA de la mutation H275Y (détectée par la RT-PCR H275Y et confirmée par séquençage)
- Deux virus A(H3N2) de sensibilité diminuée à l'oseltamivir avec des valeurs de IC_{50} oseltamivir de 23,09 nM pour le virus A/LyonCHU/12.472/2013 et de 28,19 nM pour le virus A/LyonCHU/15.101/2013, tous deux isolés chez une patiente de 24 ans allogreffée de moelle pour LAM.

Aucune évaluation phénotypique de la sensibilité aux antiviraux n'est réalisée au CNR-IPG qui n'effectue pas l'isolement viral.

2.2.3 Distribution de matériel biologique

Les laboratoires du CNR sélectionnent un échantillonnage de souches isolées (IPP, HCL) ou de prélèvements (IPG) d'intérêt (prélèvements ou souches de patients hospitalisés ou vaccinés) mais aussi prélèvements ou souches représentatifs de la circulation (différentes origines géographiques et différents types et sous-types viraux détectés) au cours de la saison de surveillance. Ceux-ci sont envoyés par les CNR-IPP et -HCL au CCOMS de Londres avant la réunion OMS de détermination de la nouvelle composition vaccinale en février et septembre. Le CNR-IPG a effectué 1 envoi au CCOMS d'Atlanta (CDC) correspondant à l'envoi d'un total de 21 prélèvements positifs pour un virus influenza A ou B et 1 envoi au CNR coordonateur à l'IP Paris correspondant à un envoi de 14 prélèvements dans le cadre de l'investigation d'une épidémie dans un camp d'orpaillage clandestin pour recherche de coronavirus.

Le CNR-IPP effectue aussi la diffusion de contrôles synthétiques, de souches virales et de protocoles aux laboratoires qui en font la demande (Liste en annexe 7).

3 Activités de surveillance

En **Métropole**, la saison de surveillance 2012-2013 a été marquée par une épidémie grippale d'intensité élevée et plus longue que les années précédentes (10 semaines) en raison de la juxtaposition d'une épidémie de virus de type A, H1N1pdm09 et H3N2, suivie d'une épidémie de virus de type B. Lors de cette saison globalement autant de virus de type A (n=1424) que de virus de type B (n=1401) ont été détectés.

La circulation de virus influenza observée dans la **région Antilles-Guyane** présente une saisonnalité moins marquée qu'en métropole notamment en Guyane. Le nombre de prélèvements reçus au CNR IPG a continué à augmenter pour la saison 2012-2013 (n=824) tandis que le pourcentage de positivité moyen des prélèvements au cours de cette période est resté élevé, au dessus de 40% (40.5%). Sur le plan virologique, les différents types viraux ont circulé partout, mais dans des proportions très différentes entre les Antilles et la Guyane : avec pour les Antilles une prédominance (65%) de virus A majoritairement A(H1N1)pdm09, et pour la Guyane une prédominance (75%) de virus B de lignage Victoria comme Yamagata.

3.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

3.1.1 Surveillance en Métropole

3.1.1.1 Réseaux

En métropole, la surveillance de la grippe au cours des infections respiratoires aiguës repose sur différents réseaux : la surveillance dans la population générale via le réseau des GROG et dans les armées via le réseau SMOG, et chez les sujets hospitalisés via le réseau RENAL de laboratoires des Centres Hospitaliers. Les CNR-IPP et -HCL ont établi des relations privilégiées mais non exclusives avec les CHU, les laboratoires des armées et les coordinations régionales du réseau des GROG de la zone géographique correspondante.

➤ GROG

Le réseau des médecins vigies présents dans 21 régions se compose de 391 médecins généralistes et 115 pédiatres.

La France-Nord comporte 13 régions : Ile de France, Basse Normandie, Centre , Bretagne, Haute-Normandie, Pays de Loire, Picardie, Champagne Ardenne, Bourgogne, Franche Comté, Lorraine, Nord-Pas-de-Calais et Alsace.

La France-Sud comporte 8 régions Aquitaine, Auvergne, Languedoc-Roussillon, Limousin, Midi-Pyrénées, Poitou-Charentes, Provence-Alpes-Côte d'Azur et Rhône-Alpes.

Néanmoins, pour des raisons politiques et financières, le réseau régional GROG Limousin a suspendu la surveillance au début de la saison 2010-2011.

Dans chaque région le réseau des GROG dispose d'une coordination régionale et la coordination nationale du réseau est assurée par Open Rome – Paris (Dr Anne Mosnier et Dr Jean-Marie Cohen). Ce réseau qui fonctionne habituellement d'octobre (semaine 40) à fin avril (semaine 15) peut au besoin poursuivre son activité ou être réactivé « hors saison ». Cela a été le cas en 2010 avec une réactivation anticipée en semaine 36 suite à l'observation en 2009 d'une hausse d'infections respiratoires aiguës dès le mois de septembre.

La surveillance épidémiologique repose notamment sur le relevé hebdomadaire de l'activité médicale, du nombre d'infections respiratoires aiguës (IRA), du nombre de gripes cliniques (ILI, mis en place depuis 2009-2010 dans le cadre du réseau unifié) et de bronchiolites observées ainsi que sur le nombre de certificats d'arrêt de travail courts prescrits.

La représentativité des médecins du réseau GROG est décrite dans le tableau 5 (Source Réseau des GROG) et leur répartition géographique est représentée Figure 2.

	Médecins généralistes (% de représentativité ¹)	Pédiatres (% de représentativité ¹)	SMOG Médecins militaires (Nombre d'unités)	Médecins d'urgence (Nombre d'associations SOS)
Alsace	14 (0,68)	19 (18,45)		2
Aquitaine	14 (0,36)	4 (3,10)	1	3
Auvergne	9 (0,68)	9 (28,13)	1	1
Basse-Normandie	18 (1,33)	3 (13,04)		2
Bourgogne	40 (2,82)		1	4
Bretagne	19 (0,57)	1 (1,08)	3	5
Centre	12 (0,55)	4 (5,06)	2	2
Corse	-	-	-	-
Champagne-Ardenne	8 (0,63)	5 (13,16)	1	2
Franche-Comté	12 (0,99)	1 (3,22)	1	1
Haute-Normandie	9 (0,54)	4 (8,51)	1	1
Ile de France	41 (0,38)	10 (1,25)	3	6
Languedoc-Roussillon	4 (0,12)		2	2
Limousin			1	1
Lorraine	21 (0,92)	6 (7,32)	3	2
Midi-Pyrénées	25 (0,75)	7 (4,73)	1	1
Nord-Pas-de-Calais	18 (0,43)	2 (2,27)	1	3
Pays de la Loire	16 (0,47)	3 (3,90)		2
Picardie	21 (1,25)			2
Poitou-Charentes	21 (1,13)	1 (2,86)	2	1
PACA	28 (0,44)	15 (4,90)	4	6
Rhône-Alpes	41 (0,65)	21 (8,14)	2	5
FRANCE	391 (0,61)	115 (4,44)	30	54

Démographie médicale, source : DREES estimation des médecins au 1^{er} janvier 2012, publiée en mai 2012

¹ Les pourcentages de représentativité sont établis par rapport au nombre de praticiens de la zone considérée

Tableau 5 : Composition du Réseau des GROG par catégorie de vigie et par région France, saison 2012-2013 (du 17 septembre 2012 au 14 avril 2013). Source : Réseau des GROG

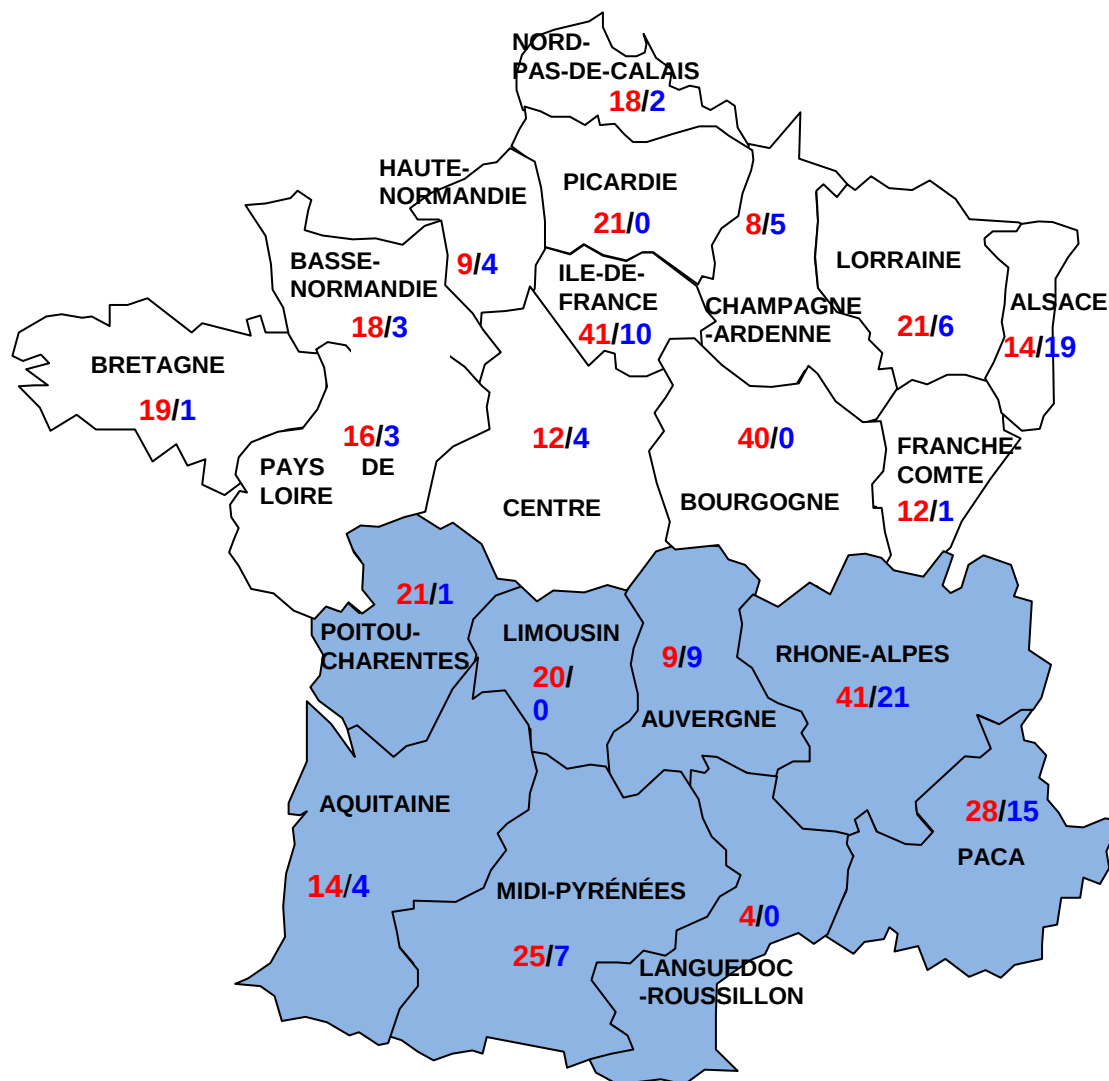


Figure 2 : Représentation géographique du réseau des GROG
 X/Y : rouge, nombre de médecins généralistes ; bleu, nombre de pédiatres
 Régions blanches : France-Nord / Régions bleues : France-Sud

Armées

Le réseau de surveillance SMOG est représenté par Bordeaux, Lyon, Marseille, Toulon, Brest, Metz, et Paris.

RENAL

Ce Réseau National des laboratoires hospitaliers comporte :

- en **France-Nord**, 29 CHU ou CH qui fonctionnent également toute l'année :
 IDF (H. Necker, H. Trousseau, C.H.U. Kremlin Bicêtre, C.H.U. Avicenne, H. St Louis, H. Antoine Beclère, HIA Val de Grâce, H. St Jacques, H. Robert Debré, H. Robert Ballanger, H. St Vincent de Paul, H. Robert Ballanger, Groupe Hospitalier La Pitié Salpêtrière, H. Mignot), Rennes, Nantes, Strasbourg, Lille, Amiens, Reims, Dijon, Brest, Rouen, Tours, Nancy, Angers, Orléans et Caen.
 Depuis 2008, pour la France Nord, le recueil hebdomadaire des données est réalisé tout au long de l'année grâce à la mise en place d'un site internet dédié à accès sécurisé.

- en **Fance-Sud**, 14 CHU ou CH (Aix-en-Provence, Annecy, Bordeaux, Chambéry, Clermont-Ferrand, Grenoble, Limoges, Lyon, Marseille, Montpellier, Nice, Poitiers, St Etienne, Toulouse) qui fonctionnent toute l'année et fournissent leurs données de surveillance virologique et sérologique. La surveillance se fait de façon hebdomadaire jusqu'au mois d'avril puis à un rythme mensuel de mai à septembre.

Le réseau RENAL fournit ainsi des données virologiques et sérologiques pour les infections respiratoires vues à l'hôpital. Sont recueillis pour les virus grippaux ainsi que pour d'autres pathogènes respiratoires viraux ou bactériens, le nombre de tests réalisés et ceux trouvés positifs. La liste des pathogènes pour lesquels les données sont collectées est donnée dans le tableau 14.

	Région Nord	Région Sud
V. grippal A NT	X	X
V. grippal A/H3 saisonnier	X	X
V. grippal A/H1N1 pdm09	X	X
V. grippal B	X	X
Lignage B Yamagata/Victoria	X	X
Parainfluenza	X	X
VRS	X	X
ADV	X	X
HSV		X
CMV		X
Myc. Pneumoniae	X	X
Chlamydia	X	X
Rhinovirus humain	X	X
Entérovirus	X	X
HMPV	X	X
HBoV	X	
Coronavirus	X	
FQ	X	

Tableau 6 : Liste des pathogènes

Données relatives à la détection et à la sérologie collectées dans le cadre du réseau RENAL.

3.1.1.2 Les prélèvements

Les laboratoires CNR-IPP et -HCL traitent les prélèvements qui leur sont adressés pour l'ensemble des régions respectives France Nord et France Sud (Figure 2).

La méthode de prélèvement par écouvillonnage est décrite en annexe 8.

Dans le cadre du réseau des GROG, pendant la période de circulation épidémique un protocole de prélèvement développé en concertation avec l'InVS est appliqué. Une tranche d'âge spécifique est attribuée à chacun des médecins généralistes et pédiatres et ceux-ci prélèvent chaque semaine le premier patient (ou à défaut le patient suivant) de la semaine présentant un syndrome grippal. Ce «protocole de prélèvement permet en prenant en compte la patientèle de chacun des médecins vigies, et par extension de la population surveillée, de déterminer l'impact de la grippe dans la population en métropole.

3.1.1.3 Données d'activité médicale et sanitaire

Parmi la cinquantaine d'indicateurs recueillis par le réseau national des GROG, c'est l'analyse de l'évolution des infections respiratoires aiguës (IRA) qui est la plus pertinente, surtout quand elle peut être confrontée à l'évolution des cas de grippe confirmés au laboratoire, et ce à partir de la même source (Figure 3). Parallèlement, à la demande de l'InVS, depuis la saison 2011-2012, l'indicateur « grippe clinique » définie par une fièvre supérieure à 39°C d'apparition brutale, accompagnée de myalgies et de signes respiratoires est recueilli. Ces données sont mises en commun avec celles collectées par le réseau Sentinelles dans le cadre du réseau unique de surveillance de la grippe.

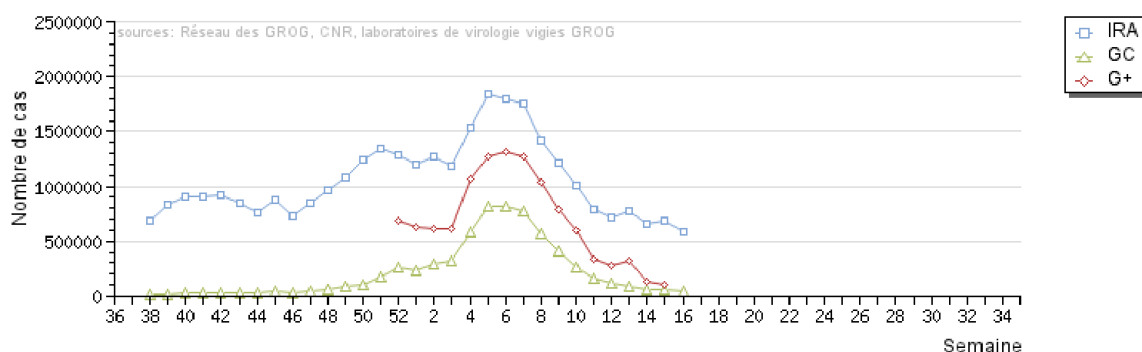


Figure 3 : IRA, Grippe Clinique (GC) et Grippe confirmée virologiquement (G+) Médecine générale et pédiatrie (Source GROG Réseau National)

La part des IRA dans l'activité des médecins généralistes vigies est restée à des valeurs habituelles et basses jusqu'à la semaine 46/2012. Une première intensification de cette proportion des IRA par acte est ensuite notée entre les semaines 47/2012 et 03/2013, coïncidant avec la circulation épidémique du VRS. Une nouvelle augmentation est notée entre les semaines 04/2013 et 09/2013, concomitante à l'intensification de la circulation grippale en France (Figure 3). Les valeurs observées sont toutefois toujours restées à des niveaux déjà observés au cours d'épidémies de grippe saisonnière antérieures (Figure 4).

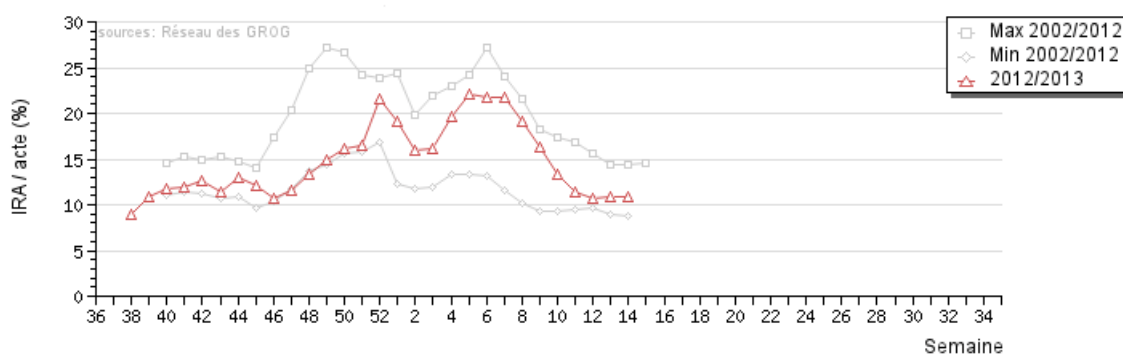


Figure 4 : IRA en Médecine Générale France 2012-13 Comparaison avec les maxima et minima enregistrés au cours des mêmes périodes entre 2002 et 2012 (Source GROG Réseau National)

Comme le montre la répartition par tranche d'âge des IRA (Figure 5), l'impact a été plus marqué chez les moins de 14 ans tandis qu'il restait modeste chez les 15-64 ans et faible chez les personnes de 65 ans et plus. On note également pour la

tranche d'âge des jeunes enfants de 0-4 ans, un taux d'IRA élevé au début de la saison (semaines 38/2012 à 44/2012), juste avant l'épidémie de VRS, vraisemblablement attribuable à la circulation de rhinovirus.

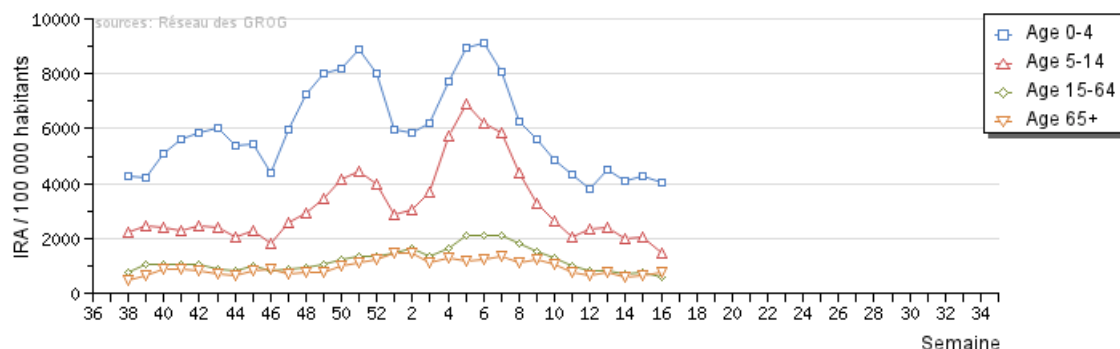


Figure 5 : IRA par tranches d'âge en France
Médecine générale et pédiatrie – saison 2011-2012

3.1.1.4 Surveillance virologique

- **Chronologie et distribution géographique du nombre des isollements/détections de virus grippaux et de VRS en France métropolitaine**

Au plan virologique, la saison 2012-2013 présente une dissociation de la circulation épidémique des VRS vis à vis des virus grippaux. Les VRS sont épidémiques entre les semaines S44/2012 et S05/2013 alors que la circulation épidémique des virus grippaux débute à la semaine S52/2012 pour se terminer semaine S13/2013. L'épidémie de VRS pour la France-sud a débuté 4 semaines après la France-nord. En revanche, l'épidémie grippale a débuté quasiment au même moment, aux alentours de la semaine S52 /2012 (Figures 6 à 8).

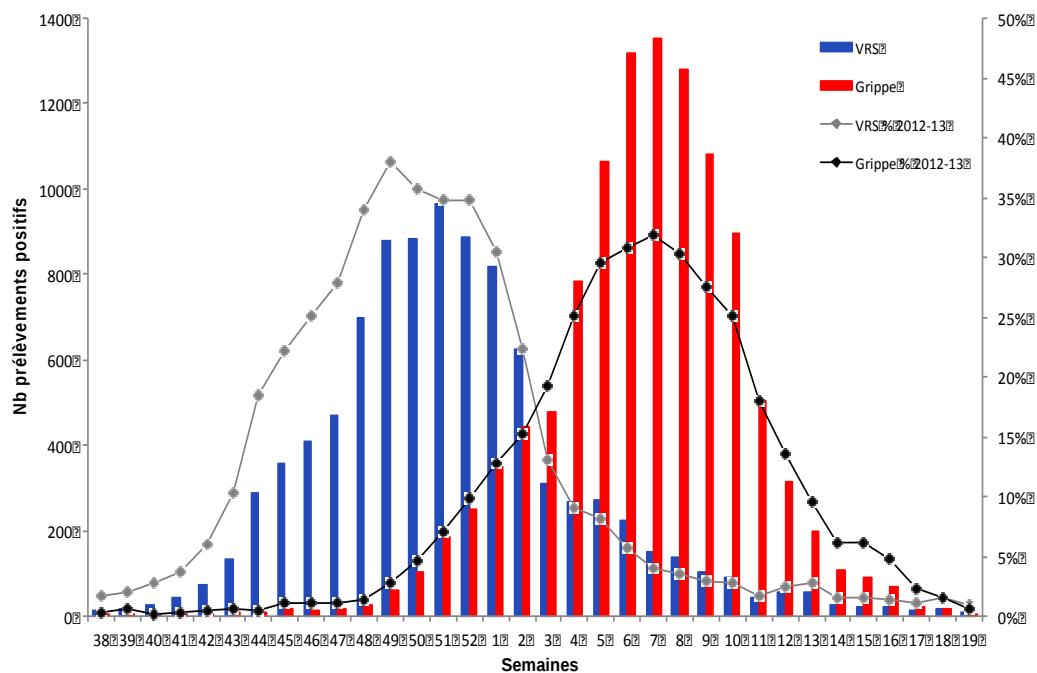


Figure 6 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

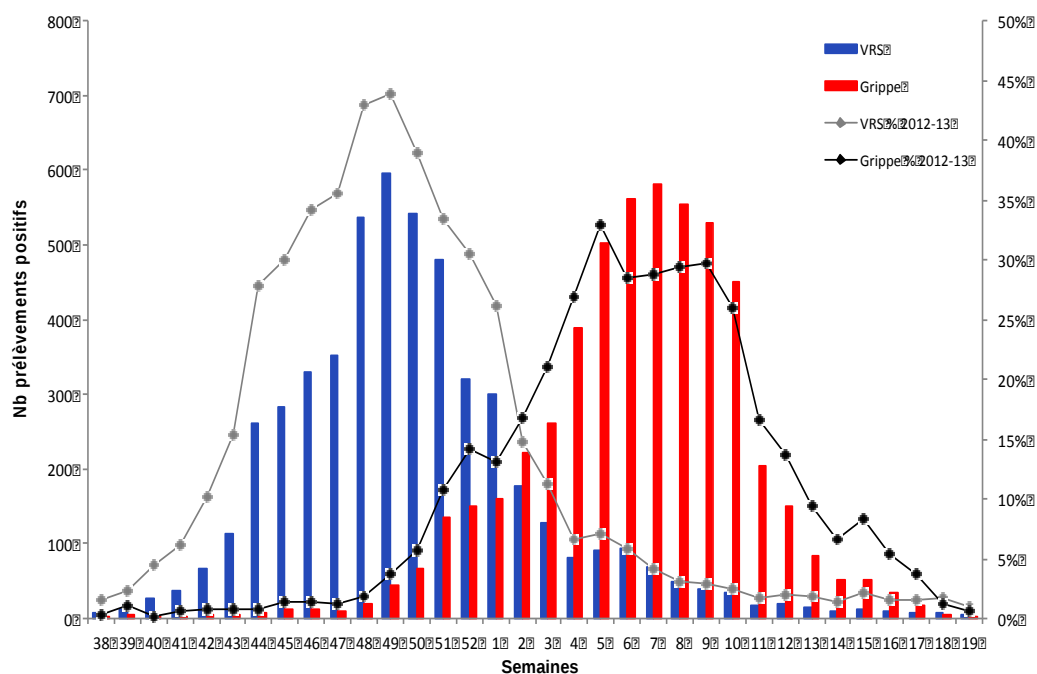


Figure 7 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Nord
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

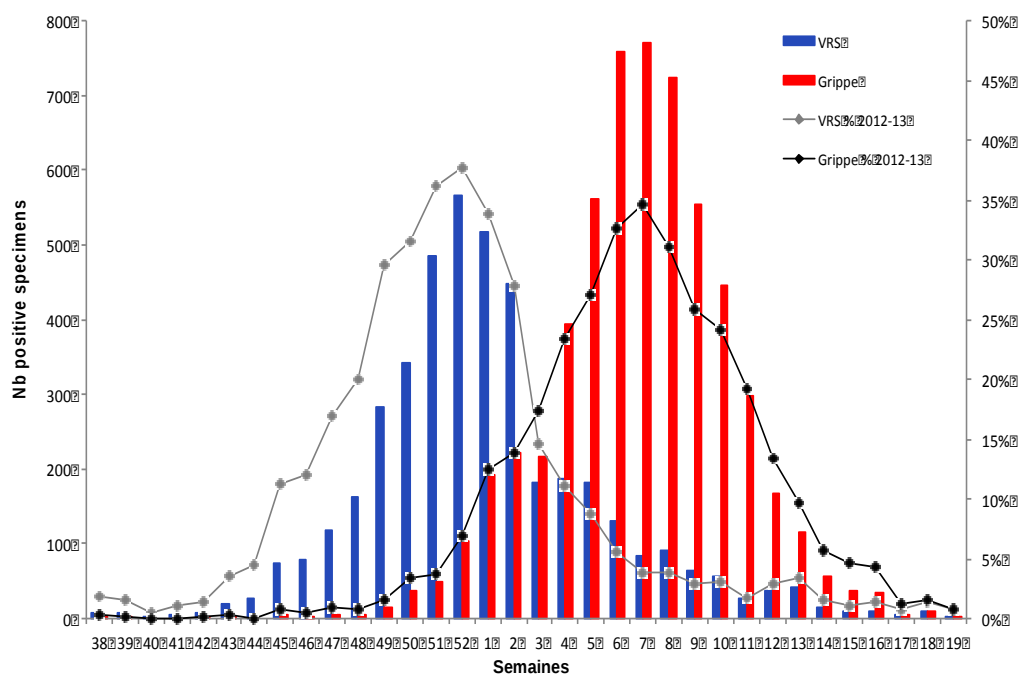


Figure 8 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Sud
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-21013

Au cours de la saison de surveillance 2012-2013, les détections de virus grippaux dans les prélèvements GROG sont restées sporadiques jusqu'à début décembre et concernaient les 3 types ou sous-types, A(H3N2), A(H1N1)pdm09 et B sans virus dominant. Les détections de virus de type A et B ont ensuite augmenté de façon quasi concomitante, entraînant une vague épidémique saisonnière à 3 virus (Figure 9 à 11). La vague épidémique saisonnière a duré 13 semaines, et a été observée entre la semaine S51/2012 et la semaine S11/2013. Le pic épidémique a été franchi pendant les semaines S05/2013 et S06/2013. A partir de la semaine S04/2013, les détections de virus de type A ont diminué alors que celles des virus de type B ont augmenté pour rester à un niveau élevé jusqu'en S08/2013. A partir de la semaine S09/2013, les détections ont diminué pour l'ensemble des types viraux.

A l'échelle régionale, les virus grippaux ont circulé de façon intense dans toutes les régions, mais la période, la durée et l'intensité de cette circulation a présenté quelques disparités.

Globalement, l'épidémie de grippe a été d'intensité élevée et marquée par une circulation au total plus importante des virus de type B avec un taux de détection supérieur à celui des virus de type A, respectivement de 57 % et 43 % en médecine de ville.

A l'hôpital, les mêmes tendances sont retrouvées avec des taux de détection comparables à ceux observés dans le cadre du réseau des GROG, 45 % pour les virus de type A et 55 % pour les virus de type B. Seuls 40 % des virus de type A sont sous-typés. En effet, la grande majorité des laboratoires hospitaliers utilise des techniques de détection capables d'identifier les virus de type A et B et de sous-typer

uniquement les virus de type A(H1N1)pdm09. Les virus A(H3N2) restent donc non sous-typés (réseau RENAL - Figures 12 à 14 ; GROG et RENAL - Figures 15 à 17).

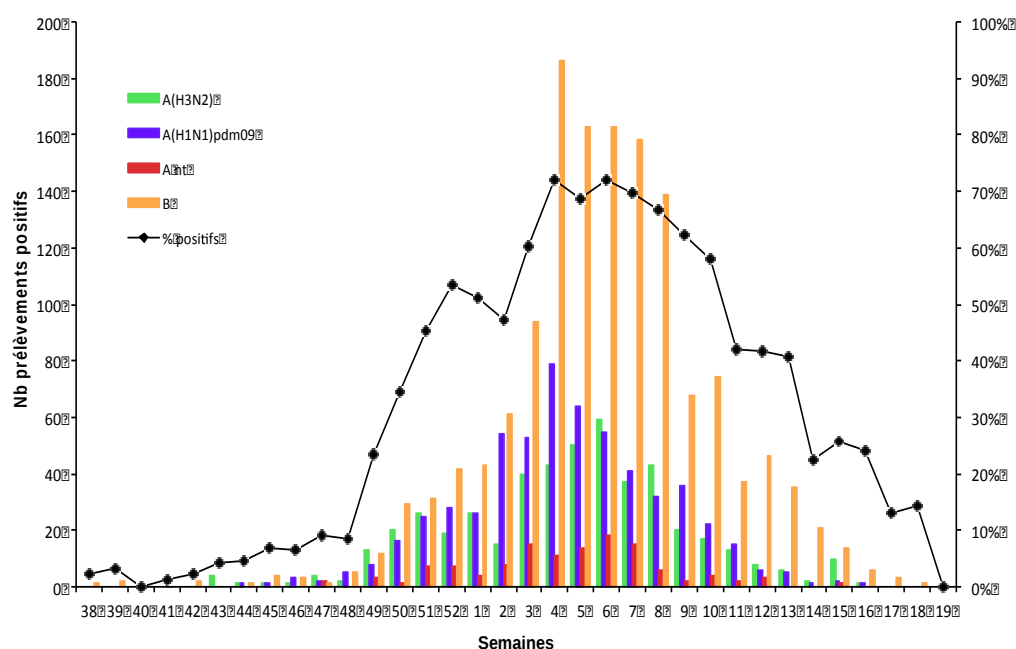


Figure 9 : Détection des virus grippaux en France
Réseau des GROG / saison 2012-2013

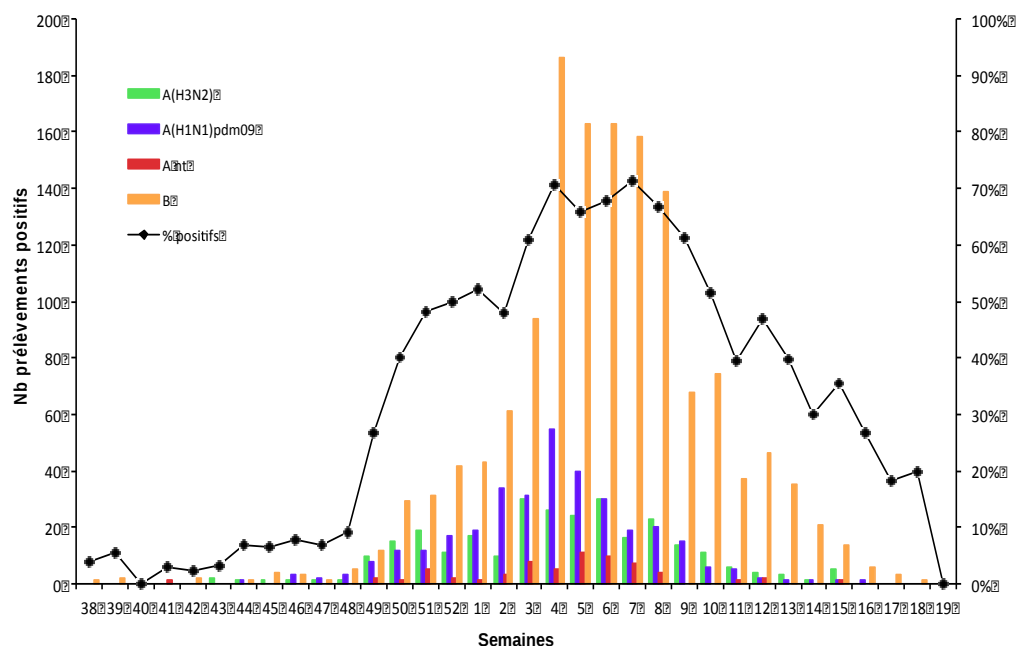


Figure 10 : Détection des virus grippaux en France-Nord
Réseau des GROG / saison 2012-2013

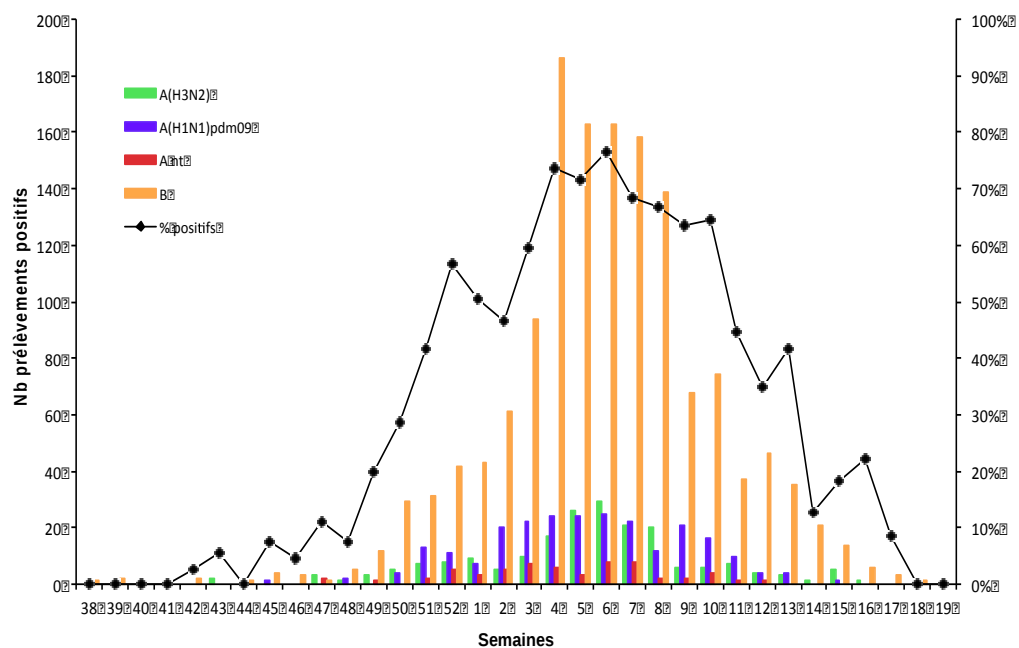


Figure 11 : Détection des virus grippaux en France-Sud
Réseau des GROG / saison 2012-2013

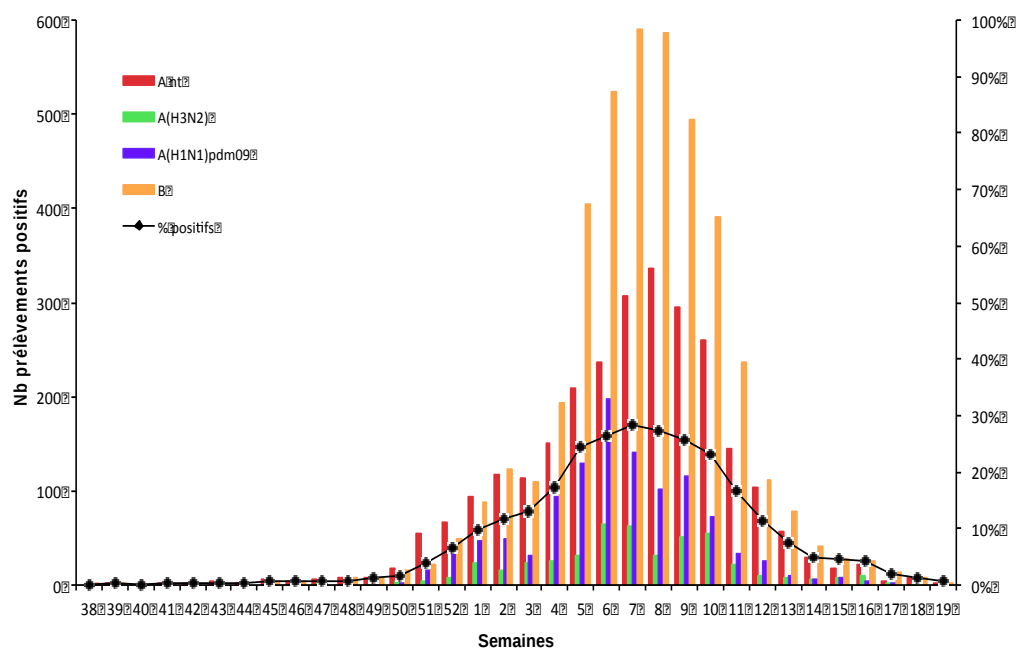


Figure 12 : Détection des virus grippaux en France
Réseau RENAL / saison 2012-2013

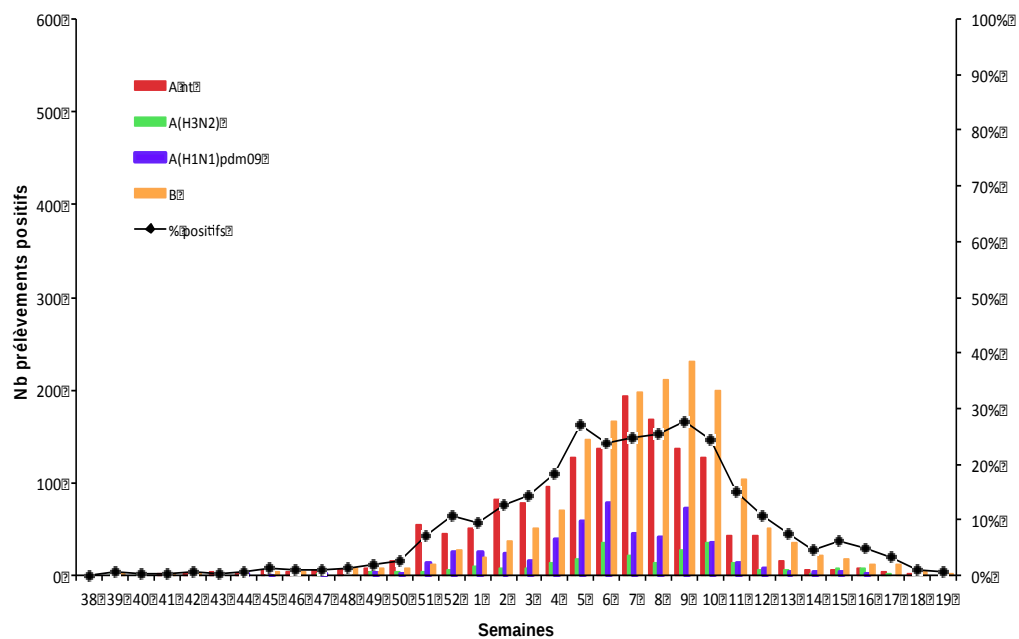


Figure 13 : Détection des virus grippaux en France-Nord
Réseau RENAL / saison 2012-2013

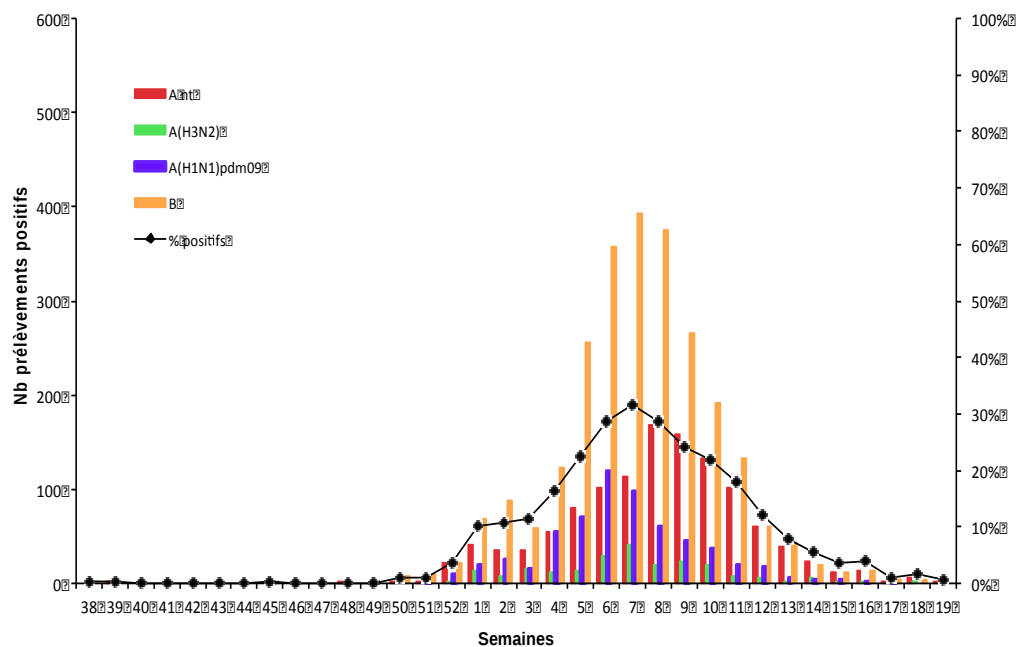


Figure 14 : Détection des virus grippaux en France-Sud
Réseau RENAL / saison 2012-2013

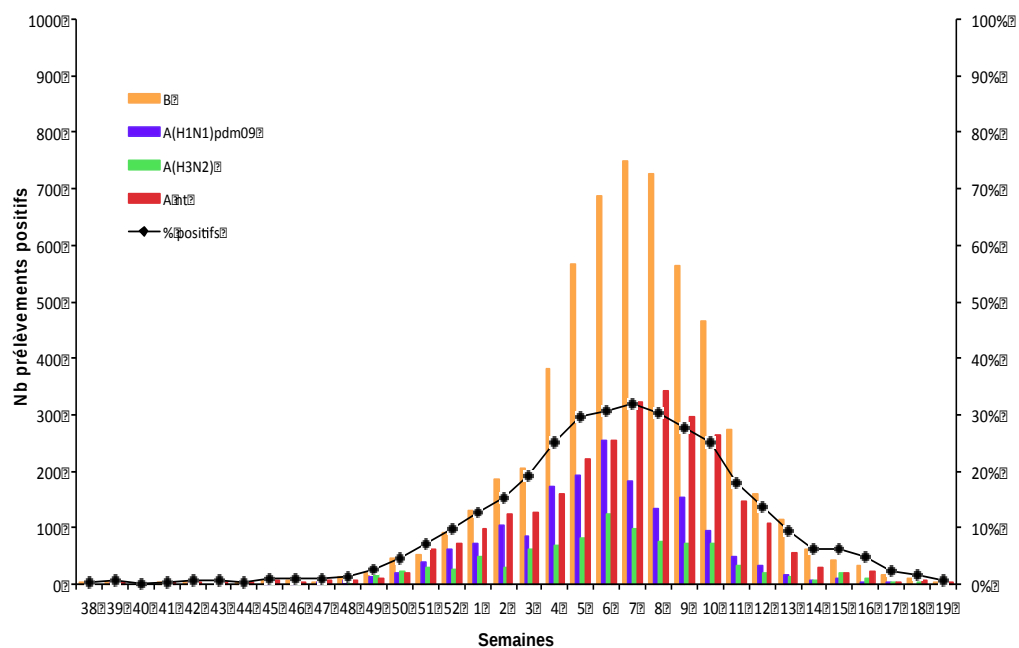


Figure 15 : Détection des virus grippaux en France
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

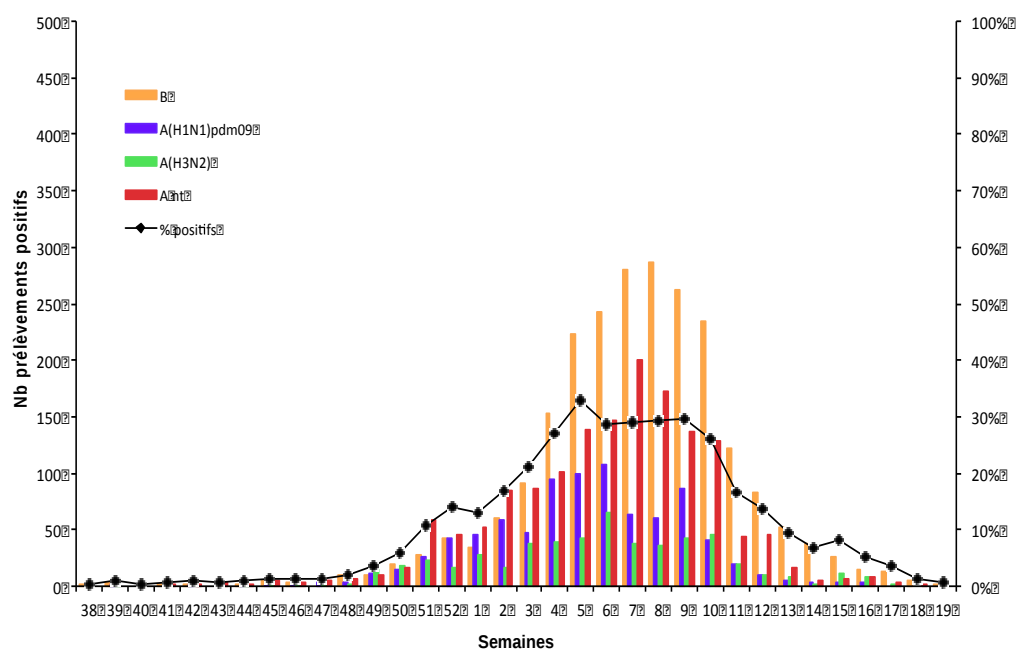


Figure 16 : Détection des virus grippaux en France-Nord
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

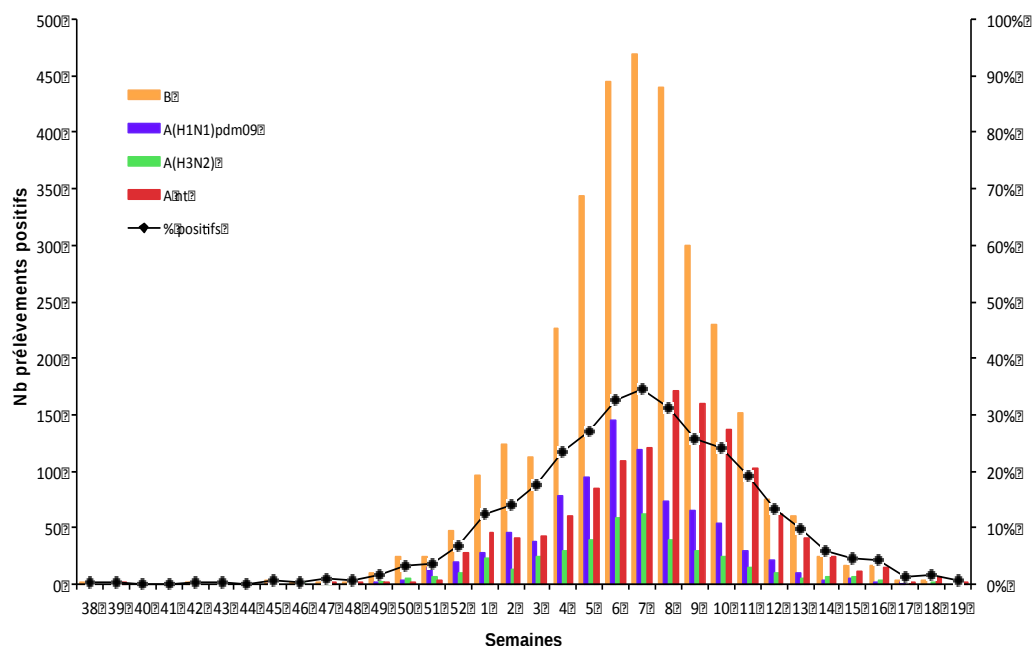


Figure 17 : Détection des virus grippaux en France-Sud
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

➤ Caractérisation antigénique des virus grippaux

L'identification des virus grippaux est réalisée sur les virus isolés en culture cellulaire (MDCK) par inhibition de l'hémagglutination (IHA) à l'aide de sérums de furet spécifiques, de sérums de mouton fournis dans le kit de l'OMS voire des sérums de lapin hyperimmuns préparés par le CNR.

Les CNR-IPP et -HCL ont analysé par IHA un total de 1265 virus grippaux parmi les virus isolés lors de la surveillance du GROG dans la population générale ou dans les armées ou de patients hospitalisés ou de personnes âgées vivant en collectivité. Ces souches sont issues de prélèvements des différentes régions de France.

Ainsi au total, 812 (64 %) virus grippaux de type A dont 418 virus A(H1N1)pdm09, 394 virus A(H3N2) et 453 (36 %) virus de type B (92 lignage B-Victoria / 361 lignage B-Yamagata) ont été caractérisés.

Virus A(H3N2)

Au total, 394 isolats A(H3N2) ont été caractérisés par IHA, montrant qu'ils étaient en grande majorité apparentés à la souche vaccinale A/Victoria/361/2011. Certains virus restent encore antigéniquement proches de A/Perth/16/2009 alors que d'autres sont de réels variants antigéniquement distincts de la souche vaccinale.

La caractérisation antigénique des virus A(H3N2) est rendue difficile par l'activité hémagglutinante de la NA qui interfère avec l'activité de la HA. La réalisation de l'IHA en présence d'oseltamivir qui inhibe l'activité de la NA permet de pallier cette

difficulté mais résulte parfois en une réduction du titre hémagglutinant qui ne permet plus la caractérisation de ces virus par IHA.

Virus A(H1N1)pdm09

Au total, 418 isolats A(H1N1)pdm09 ont été caractérisés par IHA par les laboratoires du CNR. Ils restent antigéniquement proches des virus de la saison 2011-2012 et apparentés à la souche vaccinale A/California/7/2009.

Virus B

Parmi les isolats de virus de type B, 453 ont été caractérisés par IHA par les laboratoires du CNR. La majorité (80 %) appartenait au lignage B-Yamagata et étaient antigéniquement différents du virus vaccinal B/Wisconsin/1/2010 et proches du virus B/Estonia/55669/2011 pour le CNR-IPP et du virus B/Lyon/1087/2011 pour le CNR-HCL. On remarque que les souches isolées cette année sont toujours reconnues par le sérum dirigé contre le virus B/Florida/4/06.

L'ensemble des virus du lignage B-Victoria était antigéniquement apparenté à la souche B/Brisbane/60/08 mis à part quelques virus qui se sont avérés plus proches de la souche de référence B/Hong Kong/514/09.

➤ Caractérisation génétique des virus grippaux isolés en France

Le séquençage conventionnel des virus a été réalisé pour une sélection de virus représentative des virus ayant circulé en France au cours de la saison 2012-2013. Le pyroséquençage est aussi une technique utilisée au laboratoire pour séquencer rapidement de petites régions d'intérêt dont des substitutions connues peuvent être responsables de diminution de sensibilité aux antiviraux ou génératrices de nouveaux phénotypes.

Pour les CNR-IPP et -HCL, 137 virus ont été séquencés sur 2 à 4 segments :

- 31 A(H1N1)2009 (gènes M n=24; HA n=37; NA n= 36) + 31 pyroséquençages
- 64 A(H3N2) (gènes M n=51; HA n=64, NA n=61) + 27 pyroséquençages
- 34 B (gènes M n=28; gènes BHA n=33; BNA n=34).

Les analyses phylogénétiques figurent en annexe 9.

Par ailleurs, des substitutions ont été spécifiquement recherchées en dehors des mutations associées à une résistance aux antiviraux.

Il s'agit notamment de la substitution D222G dans la HA des virus A(H1N1)pdm09. 31 échantillons provenant de patients hospitalisés ont été analysés au CNR-IPP:

La mutation D222G a été retrouvée pour un virus isolé d'un patient hospitalisé à Amiens (novembre 2012).

➤ **Distribution par âge des cas de grippe virologiquement confirmés (GROG)**

Comme le montre le tableau 7, au cours de l'hiver 2012-13, ce sont très majoritairement les enfants de 5-14 ans qui ont été les plus touchés avec 62,63 % de prélèvements positifs en France.

En médecine de ville, les virus grippaux de type B et de type A ont co-circulé avec 64 % de virus de type B et 36 % de virus de type A pour le sud et une répartition égale des 2 types viraux pour le nord. Parmi les virus de type B, le lignage Yamagata était largement dominant (91 %) par rapport au lignage Victoria (9 %).

Les virus de type B ont infecté l'ensemble des classes d'âge et plus particulièrement les enfants de 5-14 ans avec un taux de positivité de 72,96 %. Les virus de sous-type A(H1N1)pdm09 ont infecté majoritairement la classe d'âge 15-64 ans avec un taux de positivité de 29,20 % alors que les virus A(H3N2) ont infecté la classe d'âge >65 ans avec un taux de 38,66% (Tableau 8).

France métropolitaine

Age	Nb Prlvt	Nb Grippe +	% de + dans la tranche âge	% du groupe d'âge/ total	% + /total +
0-4	1294	501	38,72	32,65	25,65
5-14	859	538	62,63	21,68	27,55
15-64	1585	795	50,16	39,99	40,71
≥65	225	119	52,89	5,68	6,09
Total	3963	1953		100	100

Tableau 7 : Distribution par âge des patients– Réseau GROG

Prélèvements réalisés dans le cadre du Réseau GROG et trouvés positifs pour la grippe en France / Saison 2012-2013

Age	Nb Grippe +	Nb grippe A non sous-typé	(%)	Nb grippe A H1pdm09	(%)	Nb grippe A/H3	(%)	Nb grippe B	(%)	total
0-4	502	2	0,40	136	27,09	90	17,93	274	54,58	100
5-14	540	1	0,19	74	13,70	71	13,15	394	72,96	100
15-64	798	3	0,38	233	29,20	161	20,18	401	50,25	100
≥65	119	1	0,84	16	13,45	46	38,66	56	47,06	100
Total	1959	7	0,36	459	23,43	368	18,79	1125	57,43	

Tableau 8 : Distribution par tranche d'âge et par type viral - Réseau GROG

Prélèvements réalisés dans le cadre du Réseau GROG et trouvés positifs pour la grippe en France / Saison 2012-2013

➤ Cas de grippe confirmés virologiquement chez des personnes vaccinées

Lors de la saison 2012-2013, parmi les prélèvements de patients pour lesquels le statut vaccinal était connu, 7,08 % seulement provenaient de patients vaccinés (toujours inférieur aux 11,7 % de vaccinés parmi les patients prélevés de la saison 2008-2009 (Tableau 9). Le pourcentage de détection de grippe était de 53,8 % parmi les vaccinés et de 49,1 % chez les non vaccinés.

France métropolitaine

Statut	Grippe +		Grippe -		Effectif	
	Nbre	(%)	Nbre	(%)	Nbre	(%)
Vaccinés	142	7,70	122	6,48	264	7,08
Non Vaccinés	1703	92,30	1762	93,52	3465	92,92
Total	1845		1884		3729	

Tableau 9 : Statut vaccinal - Distribution des virus grippaux détectés au CNR
Réseau GROG / saison 2012-2013

Parmi les personnes prélevées dans le cadre du réseau GROG, le pourcentage de vaccinés est resté très faible dans les tranches d'âge inférieures à 65 ans (2,31 à 7,19 %). Pour les plus de 65 ans, qui correspondent traditionnellement à la tranche d'âge la mieux vaccinée, les prélèvements réalisés chez les vaccinés ont représenté 45,41 % (Tableau 10).

Age (ans)	0-4	(%)	5-14	(%)	15-64	(%)	≥65	(%)
Vaccinés	28	2,31	29	3,64	108	7,19	99	45,41
Non Vaccinés	1184	97,69	768	96,36	1394	92,81	119	54,59
Total	1212		797		1502		218	

Tableau 10 : Statut vaccinal - Distribution par tranche d'âge
Nombre de prélèvements de patients testés au CNR - Réseau GROG / saison 2012-2013

3.1.1.5 Contribution à la surveillance microbiologique et épidémiologique des autres agents pathogènes responsables d'infections respiratoires aiguës

Les données concernant les autres pathogènes responsables d'infections respiratoires aiguës sont essentiellement recueillies par le biais du réseau RENAL et correspondent majoritairement aux détectations/isolements réalisés en milieu hospitalier à l'exception du VRS et des rhinovirus qui sont également systématiquement recherchés dans les prélèvements provenant de la surveillance en médecine de ville du réseau des GROG.

➤ VRS

Cette saison, les circulations épidémiques du VRS et des virus grippaux ont été dissociées. Comme la saison dernière, le VRS a circulé de façon épidémique au cours des mois d'octobre à mars avec un retard d'environ 3 semaines pour la région sud (Figures 18 à 20). Sa circulation au cours de la saison a été légèrement plus intense que l'année dernière, avec une chute plus marquée début janvier. Le taux de détection de la région sud est inférieur à celui de la région nord.

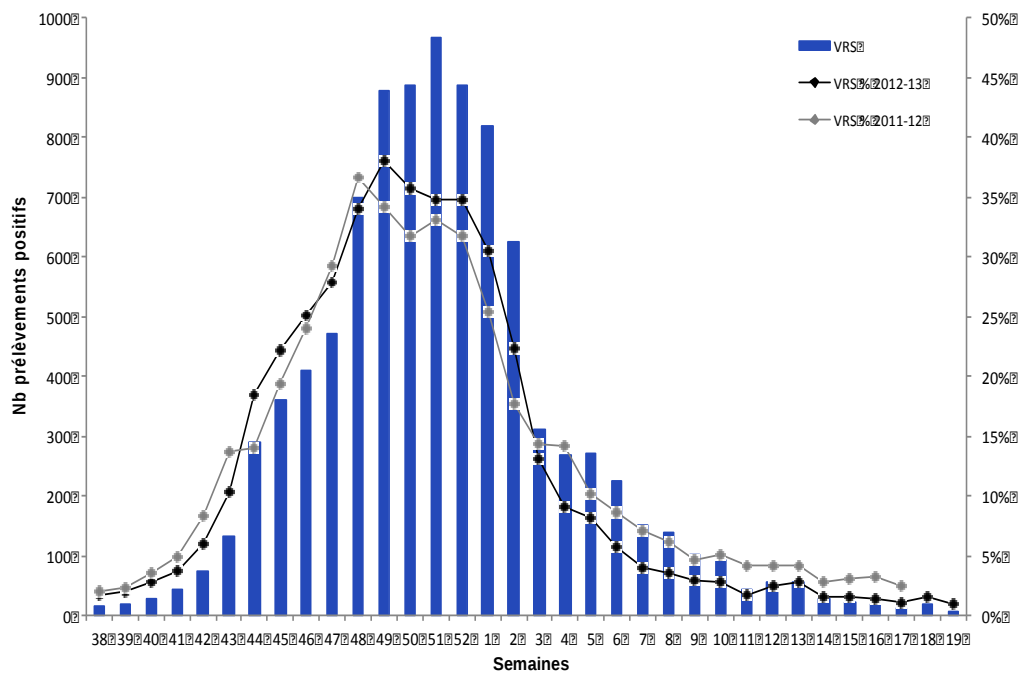


Figure 18 : Détection du VRS en France
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

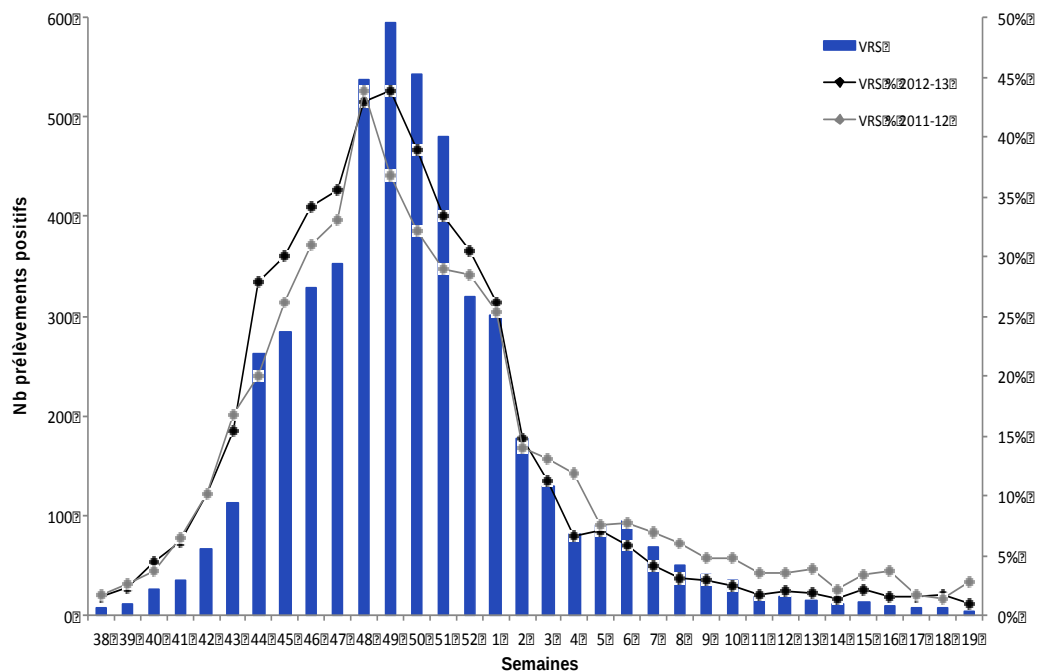


Figure 19 : Détection du VRS en France-Nord
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

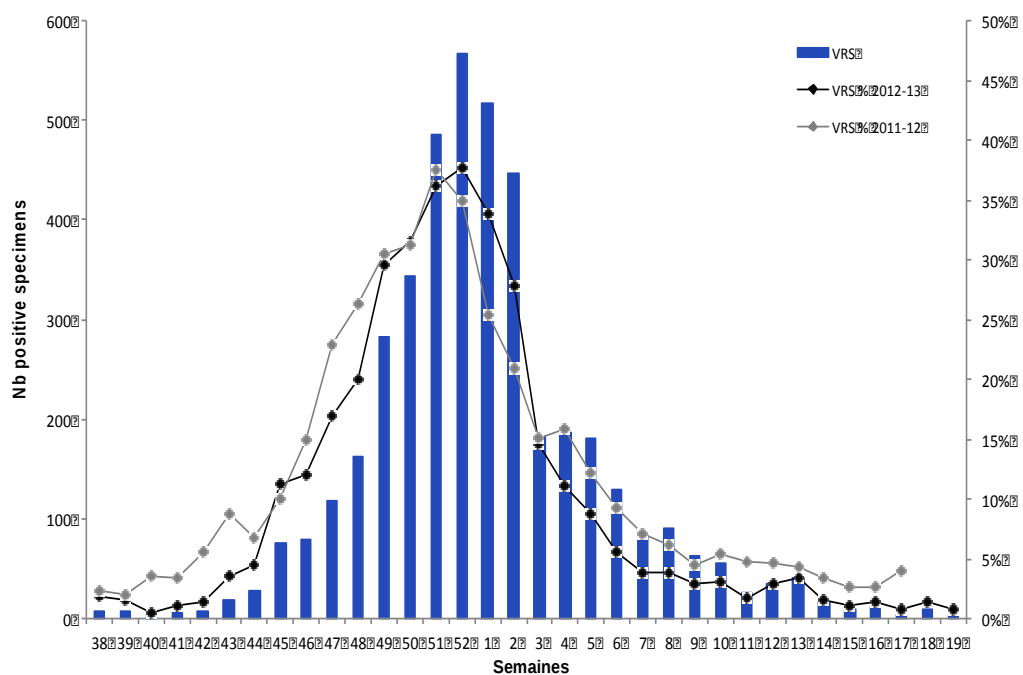


Figure 20 : Détection du VRS en France-Sud
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

➤ Rhinovirus humains

Les rhinovirus ont été détectés de façon quasiment continue tout au long de la saison 2012-2013. Leur circulation a diminué dans un premier temps lors de l'épidémie de VRS (S43/2012-S03/2013) et se sont maintenus à un taux faible tout au long de l'épidémie de grippe (S51/2012-S/13/2013) (Figure 21 à 23).

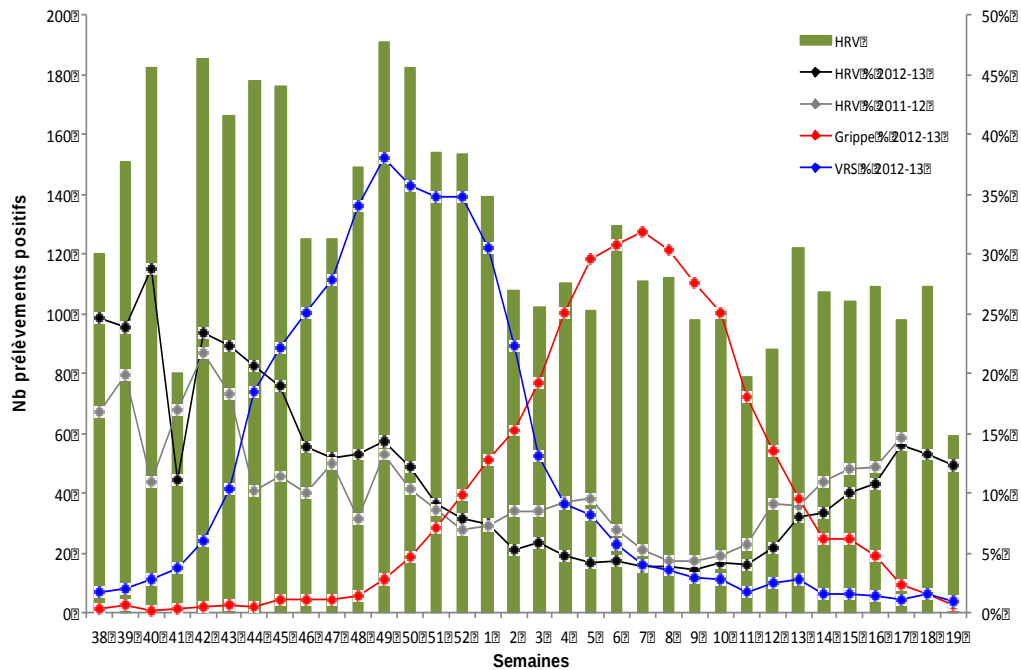


Figure 21 : Détection des rhinovirus humains en France
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

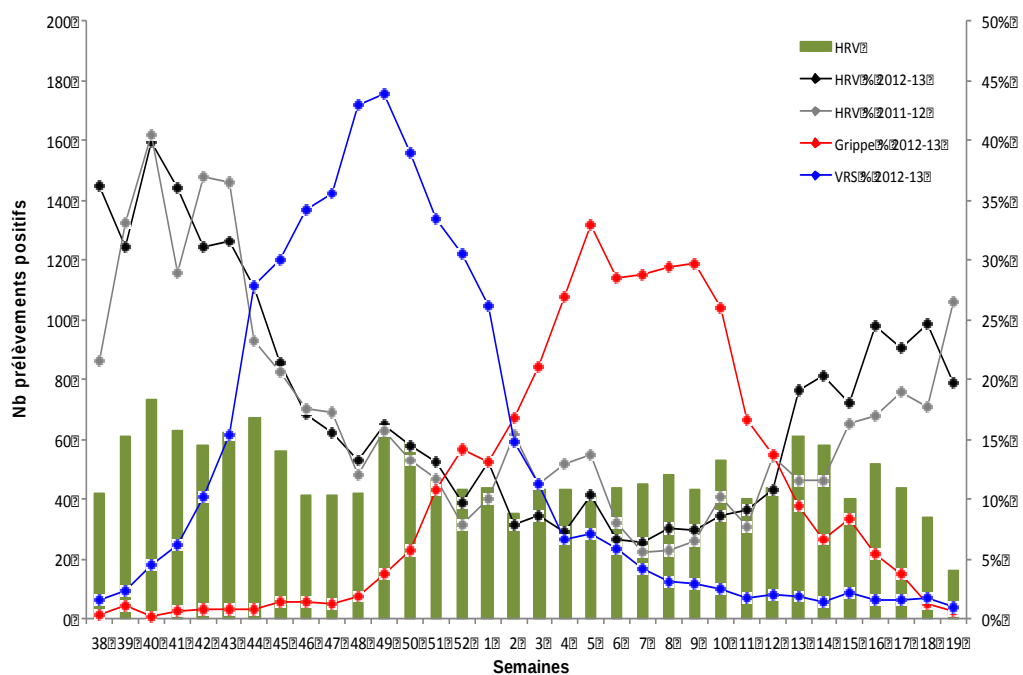


Figure 22 : Détection des rhinovirus humains en France-Nord
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

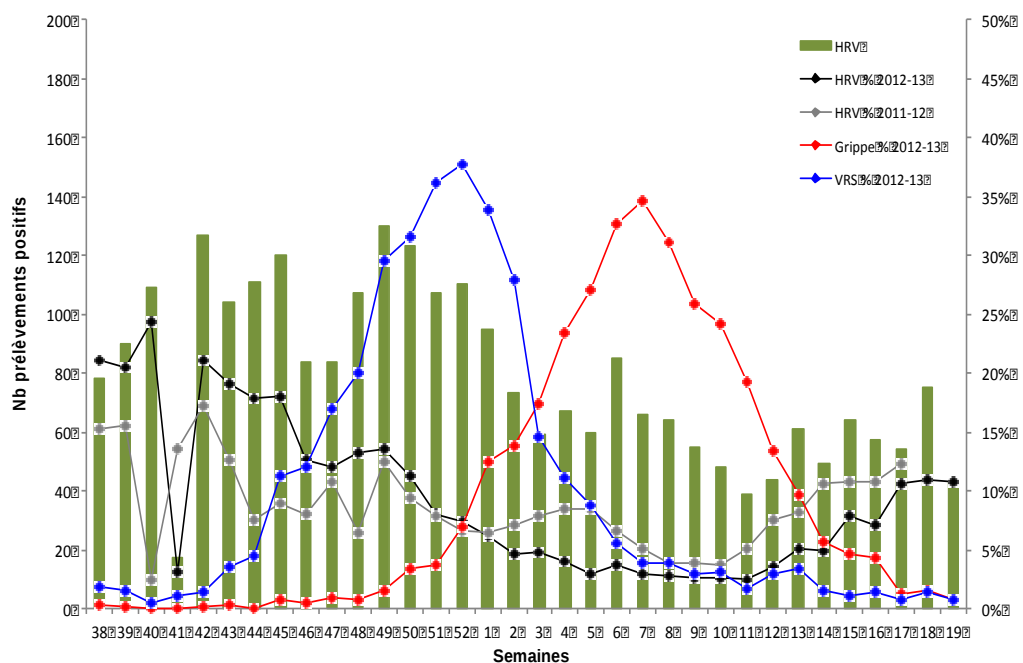


Figure 23 : Détection des rhinovirus humains en France-Sud
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

➤ Adénovirus

Les adénovirus ont été détectés/isolés de façon continue tout au long de la saison 2012-2013 avec une circulation globalement faible et un pourcentage de prélèvements positifs toujours inférieur à 3% (Figure 24).

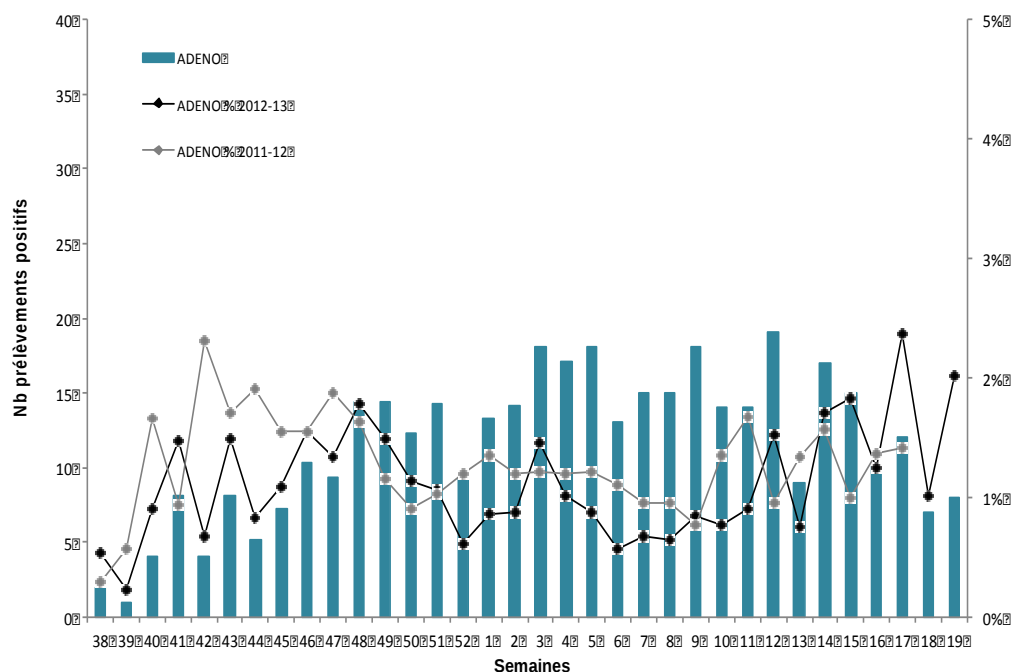


Figure 24 : Détection des adénovirus en France
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

➤ Virus parainfluenza

Les virus parainfluenza ont été détectés à des niveaux faibles tout au long de la saison 2012-2013 (Figure 25).

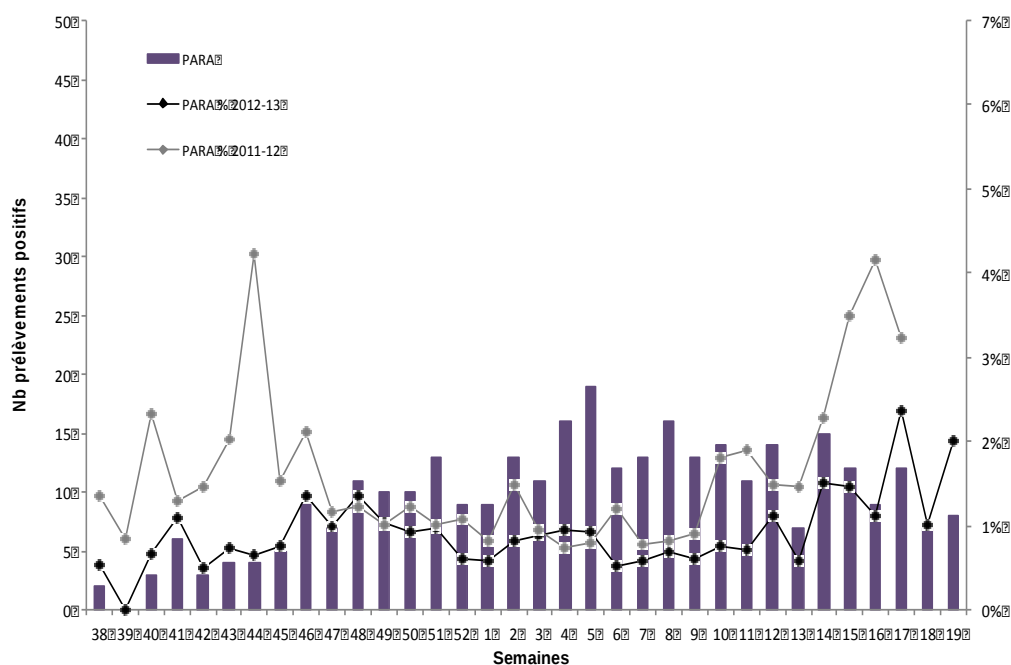


Figure 25 : Détection des virus parainfluenza en France
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

➤ Métapneumovirus humains

Comme la saison dernière, la circulation des métapneumovirus humains a augmenté de façon continue tout au long de l'hiver 2012-2013 et jusqu'au printemps 2013 (Figure 26).

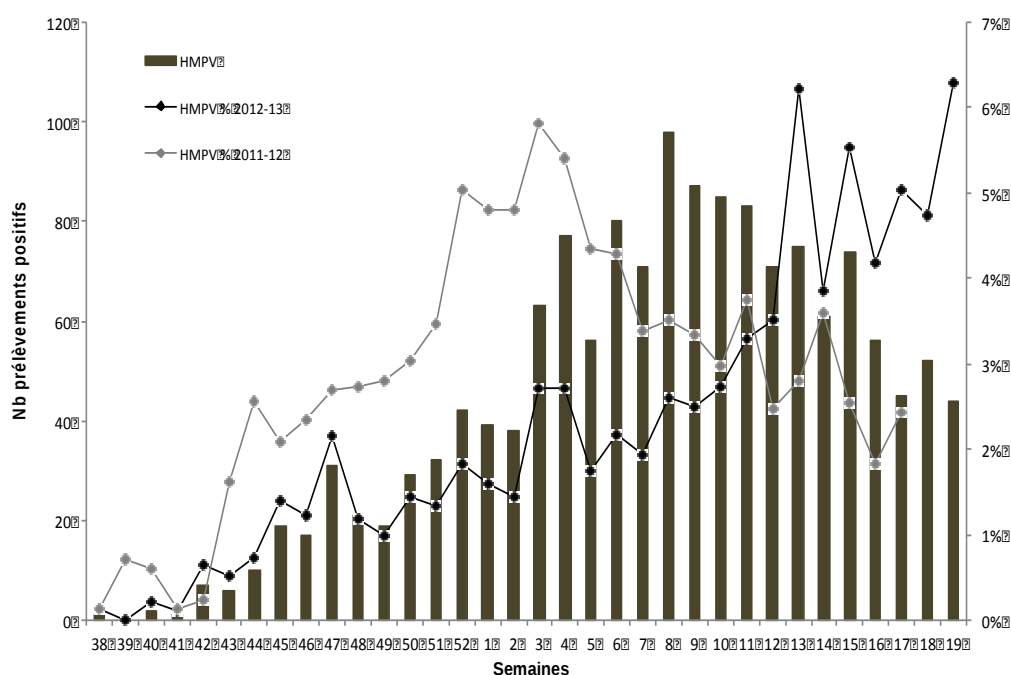


Figure 26 : Détection des métapneumovirus humains en France
Réseaux GROG et RENAL / saison 2012-2013

➤ Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS

Pendant la période de surveillance active, les données de la surveillance virologique issue des réseaux GROG, SMOG et RENAL pour la région Nord et la région Sud sont compilées par le Centre coordinateur du CNR (CNR-IPP) et transmises de façon hebdomadaire à l'InVS. Ces données sont ainsi mises en commun avec les données de surveillance du réseau des GROG, du réseau Sentinelles et les données collectées par l'InVS (réseau OSCOUR, surveillance des cas graves, etc..). Ces données hebdomadaires sont analysées et font l'objet d'une évaluation des tendances lors d'une discussion téléphonique hebdomadaire dans la perspective de la rédaction du bulletin hebdomadaire de l'InVS et de la transmission des données au réseau européen EISN/ECDC (cf ci-dessous § 3.3).

3.1.1 Surveillance en Région Antilles-Guyane

3.1.1.1 Réseau de partenaires

La surveillance de la grippe et des infections respiratoires aiguës repose en grande partie sur une surveillance en population générale menée en partenariat avec les ARS concernées, la Cire Antilles-Guyane et les réseaux sentinelle Grippe de Guyane, Martinique et Guadeloupe. En Guyane, le réseau sentinelle est constitué de 24 médecins généralistes choisis dans les communes du littoral (seules accessibles par la route et où réside environ 80% de la population) : Cayenne, Rémire-Montjoly, Matoury, Kourou, Sinnamary, Mana et St Laurent du Maroni. En Guadeloupe et en Martinique, les réseaux de médecins sentinelles se composent chacun de 12 médecins généralistes. Si en Guyane, la surveillance des virus grippaux est continue toute l'année, aux Antilles cette dernière n'est activée que de décembre à avril.

Le protocole prévoit, pour chaque médecin, le prélèvement des deux premiers patients de la semaine, présentant un syndrome grippal défini par « une fièvre $>39^{\circ}\text{C}$ d'apparition brutale accompagnée de myalgies et de signes respiratoires » et évoluant depuis moins de 48H.

La surveillance de la grippe repose également sur une surveillance hospitalière en collaboration avec les laboratoires des hôpitaux et CHU de la région.

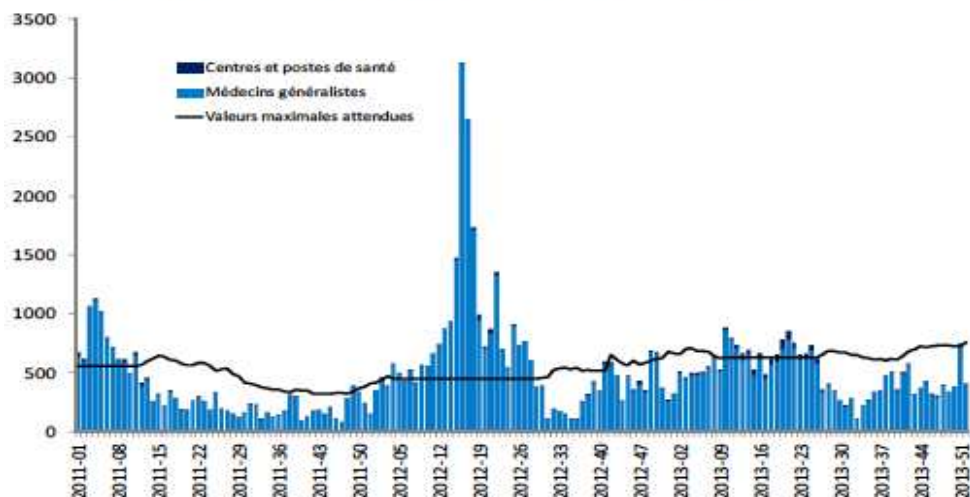
Enfin, des laboratoires d'analyses de biologie médicale (LABM) privés et notamment le LABM de l'Institut Pasteur de la Guyane participent aussi à cette surveillance.

➤ Résultats de la surveillance

Données d'activité sanitaire

Sur la base des estimations du nombre hebdomadaire de patients ayant consulté un médecin généraliste pour syndrome grippal, l'épidémie de syndrome grippal en Guyane a démarré tardivement (S10/2013) comme habituellement et est restée d'ampleur très modérée même si elle s'est prolongée sur 17 semaines. Aux Antilles, les épidémies ont démarré en semaine 52 (S52/2012) et se sont prolongées 12 et 10 semaines respectivement pour Martinique et Guadeloupe ; plus prolongées que la saison précédente ces épidémies sont restées de sévérité modérée (cf Figures 4 à 6).

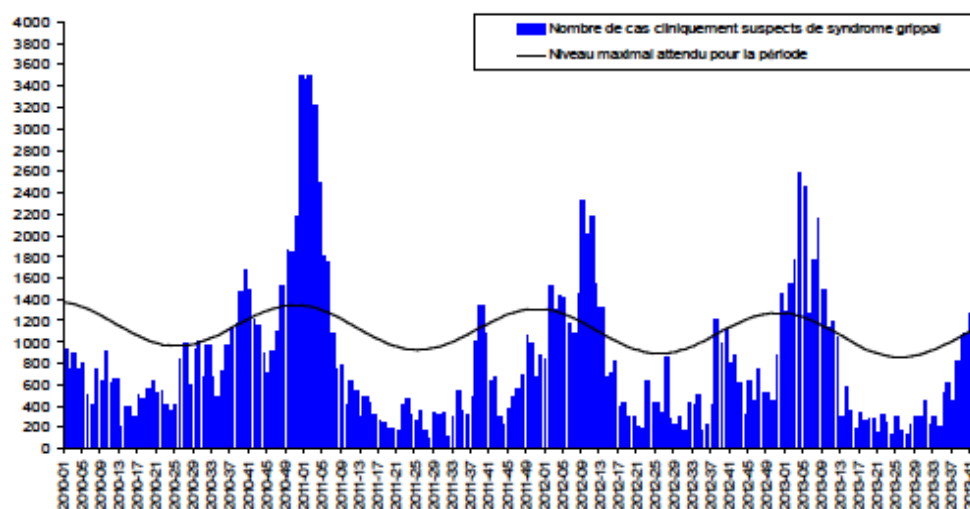
Nombre hebdomadaire de patients ayant présenté un syndrome grippal et ayant consulté un médecin généraliste* ou ayant consulté dans les Centres délocalisés de prévention et de soins pour une fièvre associée à des signes respiratoires, Guyane, janvier 2011 à décembre 2013 / Estimated weekly number of flu like illnesses diagnosed in GP clinics or health centres, French Guiana, January 2011 to December 2013



*Le nombre de cas est une estimation pour l'ensemble de la population guyanaise du littoral du nombre de personnes ayant consulté un médecin généraliste pour un syndrome clinique évocateur de grippe. Cette estimation est réalisée à partir des données recueillies par le réseau des médecins sentinelles.

Figure 27 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal Médecins généralistes de Guyane – janvier 2011 à décembre 2013 (Source Cire Antilles Guyane)

Nombre* hebdomadaire de patients ayant consulté un médecin généraliste pour syndrome grippal, Martinique, janvier 2010 à octobre 2013

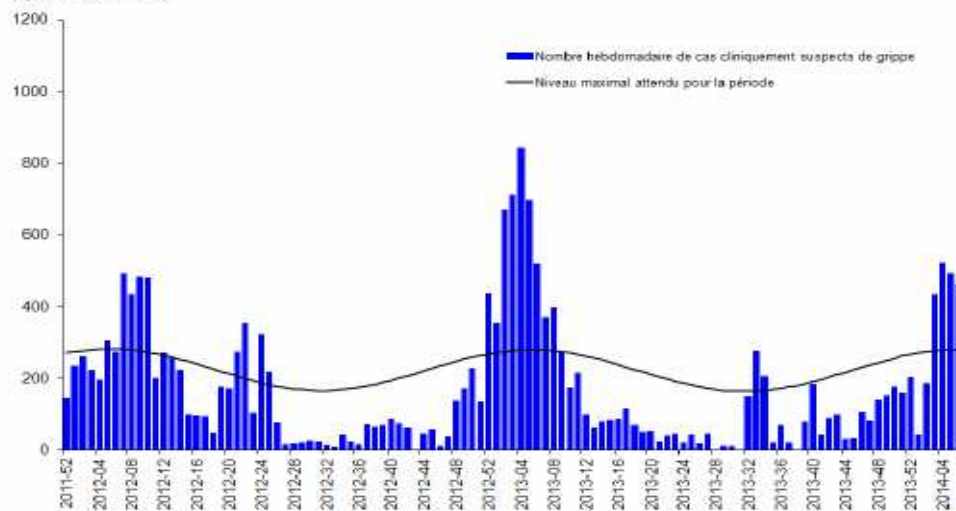


Source : Réseau de médecins généralistes de la Martinique

*Le nombre de cas est une estimation pour l'ensemble de la population martiniquaise du nombre de personnes ayant consulté un médecin généraliste pour un syndrome clinique évocateur de grippe. Cette estimation est réalisée à partir des données recueillies par le réseau des médecins sentinelles.

Figure 28 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal Médecins généralistes de Martinique – janvier 2010 à décembre 2013 (Source Cire Antilles Guyane)

Nombre* hebdomadaire de patients ayant présenté un syndrome grippal et ayant consulté un médecin généraliste, Guadeloupe, décembre 2011 (semaine 2011-52) à février 2014 (semaine 2014-06) / Estimated weekly number of Influenza-like illnesses diagnosed in GP clinics, Guadeloupe, December 2011 to February 2014 (epi-week 2014-06)

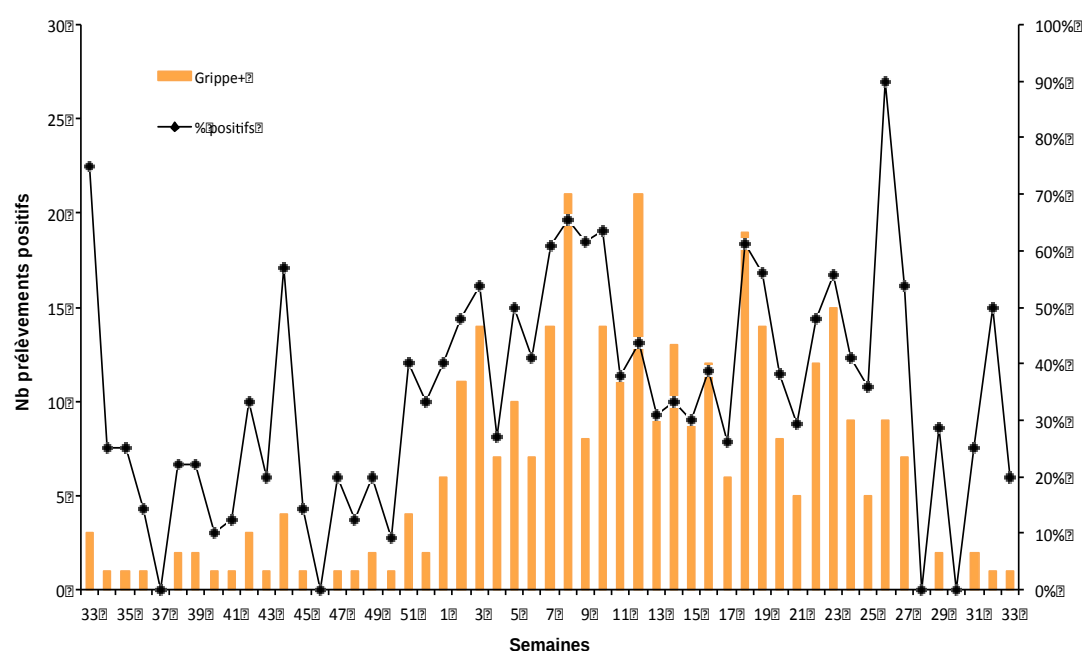


*Le nombre de cas est une estimation pour l'ensemble de la population guadeloupéenne du nombre de personnes ayant consulté un médecin généraliste pour un syndrome clinique évocateur de grippe. Cette estimation est réalisée à partir des données recueillies par le réseau des médecins sentinelles.

Figure 29 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal
Médecins généralistes de Guadeloupe – décembre 2011 à février 2014 (Source Cire Antilles Guyane)

Chronologie et distribution géographique du nombre de détections de virus grippaux pour la région Antilles Guyane

Sur le plan virologique, pour les prélèvements reçus au CNR, la saison 2012-2013 a été marquée par un pourcentage de positivité pour un virus grippal élevé sur une grande partie de l'année : à l'exception de 4 semaines sur 52 pour lesquelles aucun virus n'a été détecté (correspondant à des semaines pour lesquelles 0 à 5 prélèvements seulement avaient été reçus), le pourcentage de positivité a fluctué de 9 à 90% sur l'ensemble de l'année avec un taux de positivité moyen de 40,5% (Figure 30).



*Figure 30 : Détection des virus grippaux en région Antilles Guyane
CNR-IPG / saison 2012-2013*

L'essentiel des prélèvements reçus au CNR-IPG provient de Guyane avec comme les années précédentes, une circulation épidémique plus tardive et plus prolongée en Guyane qu'aux Antilles (Figure 31).

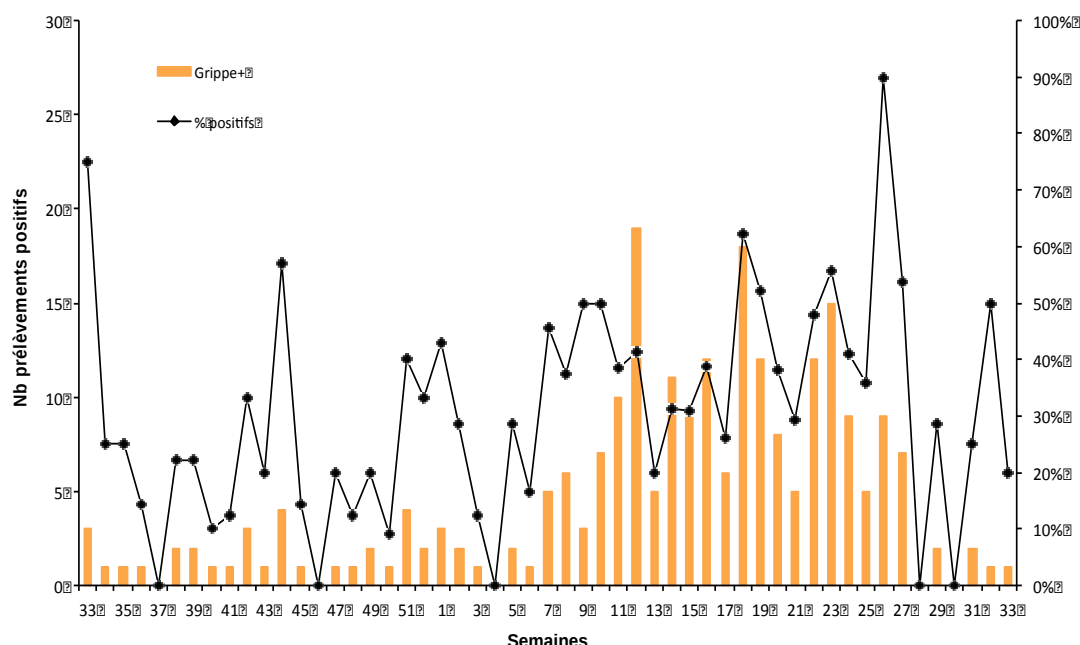


Figure 31 : Détection des virus grippaux en Guyane
CNR-IPG / saison 2012-2013



Analyse de la distribution des différents types d'agents caractérisés en fonction des critères pertinents (âge, sexe, géographie) et analyse des tendances

Les épidémies de grippe pour la Guyane comme les Antilles ont été marquées par une co-circulation de virus grippaux (Tableau 2 et Figures 32 à 34):

- pour la Guyane, co-circulation virale avec une large prédominance de virus B (75 %) (respectivement 30,4 % de lignage B Victoria, 39,6 % de lignage B Yamagata et 5 % de B non sous typés) associée à 25 % de virus A (20,4 % A(H1N1)pdm09 et 4,6 % A(H3N2))
- pour les Antilles, également co-circulation virale mais avec prédominance de virus A (65 %) (42,6 % A(H1N1)pdm09 ; 20,2 % A(H3N2); 2,1 % A non sous typés) associés à 35 % de virus B essentiellement de lignage Yamagata (33%).

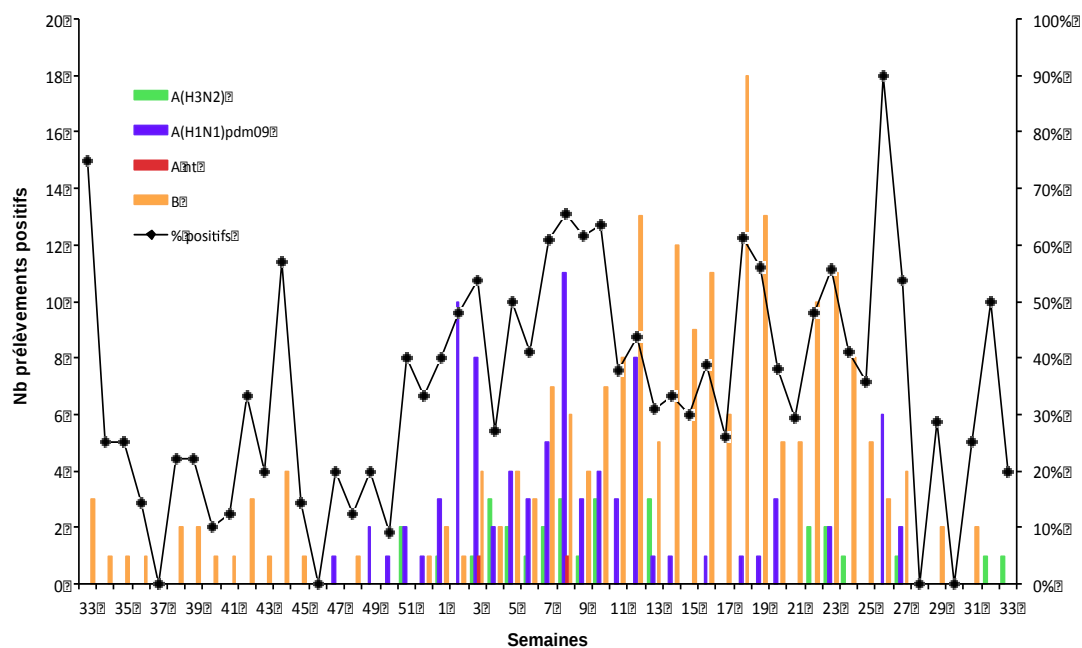


Figure 32 : Répartition des virus grippaux détectés en région Antilles-Guyane
CNR-IPG / saison 2012-2013

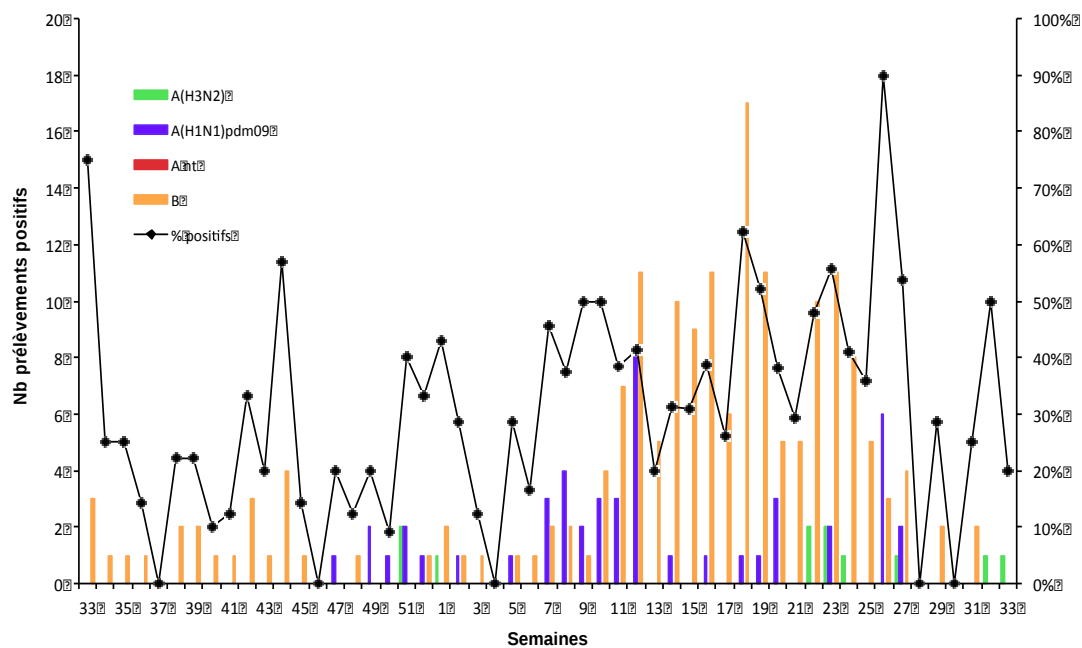


Figure 33 : Répartition des virus grippaux détectés en Guyane
CNR-IPG / saison 2012-2013

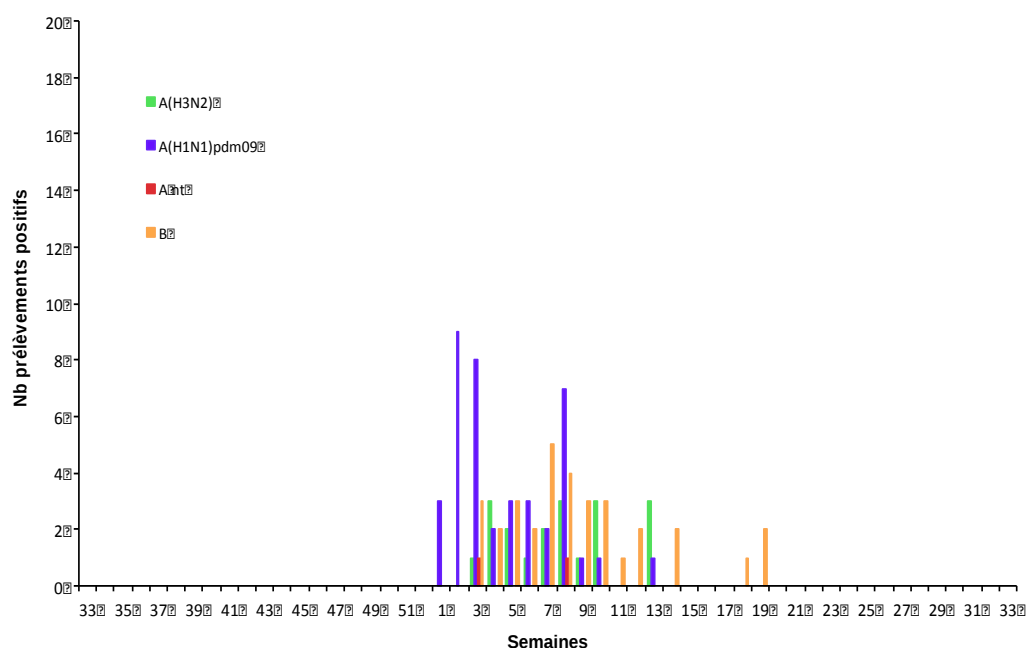


Figure 34 : Répartition des virus grippaux détectés aux Antilles (Martinique et Guadeloupe) CNR-IPG / saison 2012-2013

Dans le cadre de la surveillance sentinelle, l'analyse de la distribution par âge montre que ce sont les enfants de 5-14 ans qui constituent la majorité des patients prélevés (66 %) tandis que le pourcentage de positivité pour grippe le plus élevé (près de 55%) est observé pour les 15-64 ans. (Tableau 11).

Le virus B a été le virus dominant dans presque toutes les classes d'âge sauf dans la classe d'âge des 0-4 ans où le virus A(H1N1)pdm09 est majoritaire. Les virus A(H3N2) sont quant à eux restés très minoritaires quelle que soit la classe d'âge considérée, contrairement à la saison précédente (Tableau 12).

Age	Nb prlv	Nb grippe+	% de + dans la tranche d'âge	% du groupe d'âge/total	% de + /total de +
0-4	20	6	30,00	6,31	4,23
5-14	209	91	43,54	65,93	64,08
15-64	77	42	54,55	24,29	29,58
≥65	11	3	27,27	3,47	2,11
Total	317	142	44,79	100,00	100,00

Tableau 11 : Distribution par âge des patients – Région Antilles Guyane Surveillance sentinelle / 2012-2013

Age	NB Grippe+	Nb grippe A non sous- typé	(%)	Nb grippe A/H1pdm09	(%)	Nb grippe A/H3	(%)	Nb grippe B	(%)
0-4	6			3	50,00	1	16,67	2	33,33
5-14	91	2	2	34	37,36	9	9,89	46	50,55
15-64	42			9	21,43	1	2,38	32	76,19
≥65	3							3	100
Total	142	2	1	46	32,39	11	7,75	29	58,45

Tableau 12 : Distribution par tranche d'âge et par type viral – Région Antilles Guyane
Surveillance sentinelle / 2012-2013

➤ Contribution à la surveillance pour la région Antilles-Guyane en interface avec les ARS concernées et la Cire Antilles-Guyane

Dans le cadre de la surveillance de la grippe saisonnière, les résultats biologiques sont adressés selon une périodicité hebdomadaire aux ARS et à la Cire Antilles-Guyane sous forme de fichier informatique, sécurisé et anonymisé. Un résultat nominatif est adressé au médecin préleveur. La Cire Antilles-Guyane pilote également un système de surveillance syndromique basé sur les syndromes respiratoires dans les DFA. Ces différents types de recueil de données épidémiologiques font régulièrement l'objet de "Points Epidémiologiques Périodiques", mensuels ou hebdomadaires en fonction du contexte épidémiologique. Ces bulletins de rétro-information sont édités par la Cire Antilles-Guyane en collaboration avec les différents partenaires impliqués. Ils sont disponibles sur le site Internet de l'InVS et permettent d'assurer une rétro-information auprès des différents professionnels de santé du département, des DFA, de l'InVS et de la DGS, tout en faisant le point sur la situation épidémiologique du moment.

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

L'étude de la sensibilité aux antiviraux des virus influenza est réalisée par les CNR-IPP et CNR-HCL pour une sélection représentative de chacun des types/sous-types/lignages de virus ainsi que plus spécifiquement, les virus isolés de cas traités par antiviraux et en échec thérapeutique, de cas contacts de sujets traités ou encore de cas graves.

La résistance génétique est définie sur la base de la présence de mutations connues pour conférer une réduction de la sensibilité à un antiviral donné.

La résistance (ou réduction de la sensibilité) phénotypique est déterminée en fonction des variations des IC₅₀ par rapport aux valeurs d'IC₅₀ pour les virus de référence sauvages.

Les résultats sont présentés au § 2.2.2.

La tendance en matière de sensibilité aux antiviraux est restée stable au cours de la saison 2012-2013 par rapport à la saison précédente.

3.3 Contribution aux réseaux de surveillance européen et internationaux

3.3.1 EISN/ECDC

Les CNR-IPP et -HCL font partie du réseau européen EISN (European Influenza Surveillance Network) piloté par l'ECDC. Les données des CNR-IPP et -HCL, relatives aux virus grippaux détectés ou isolés sont compilées par le CNR-IPP et transmises à l'ECDC via l'enregistrement hebdomadaire sur la base de données TESSY. Les CNR-IPP et -HCL transmettent également des informations relatives aux caractéristiques antigéniques des virus grippaux pour contribuer au suivi de l'adéquation de la composition vaccinale au regard des virus circulants ainsi que des données génétiques et/ou phénotypiques relatives aux virus résistants aux antiviraux. Les CNR-IPP et -HCL participent également à la demande de l'ECDC à des réunions de travail spécifiques dont l'objectif est d'améliorer la surveillance. Les responsables font partie des groupes de travail « caractérisation virale », « antiviraux », « contrôle qualité » du ERLI-Net (European Reference Laboratory Network for Human Influenza) du réseau EISN/ECDC.

3.3.2 FluNet/OMS

Les trois laboratoires du CNR sont reconnus comme "National Influenza Center" par le Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) du Global Influenza Program (GIP) de l'OMS.

Les données des CNR-IPP, -HCL et -IPG, sont transmises à l'OMS par voie internet de façon bi-mensuelle dans la base FLUNET¹ à accès sécurisé par mot de passe. Elles permettent de contribuer à la surveillance globale de la circulation des virus grippaux. Les responsables ont également contribué, à la demande de l'OMS, à différents groupes de travail sur divers aspects en lien avec les activités de surveillance.

3.3.3 Contrôle de Qualité

Comme tous les ans, les trois laboratoires du CNR ont participé au contrôle qualité externe "WHO External Quality Assessment Programme for the Detection of Influenza A Virus Type A by PCR" (EQAP) organisé par l'OMS depuis 2007. Au cours de la saison 2012-2013, nous avons reçu 1 seul panel en avril 2013 (EQAP panel 12). Ce contrôle de qualité moléculaire pour la détection et le sous-typage des virus de type A (H1pdm09, H3 et H5) et de type B par RT-PCR a été élargi à la détection des virus aviaires H9 et H7.

Ainsi, le panel reçu en avril 2013 (EQAP panel 12) comportait 10 échantillons d'ARN extraits correspondant à 5 virus influenza H5, 1 H1pdm09, 1 H3, 1 H9, 1 B et 1 échantillon négatif.

Les CNR-IPP et -HCL ont pu sous-typer correctement tous les virus. Pour le CNR-IPG, tous les virus grippaux ont été détectés mais le virus H9 n'a pas pu être

¹ <http://www.who.int/csr/disease/influenza/influenzanetwork/flunet/en/>

correctement sous typé en l'absence, au laboratoire, d'outils de détection spécifiques de virus animaux à l'exception des virus H5.

3.4 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Aucune enquête ou étude ponctuelle concourant à la surveillance n'a été effectuée au cours de la saison 2012-2013.

4 Alerte

En cas de détection de phénomène anormal en métropole, les CNR-IPP et -HCL en collaboration avec la coordination nationale du réseau des GROG adressent une note de synthèse à l'InVS et la DGS. Pour la région Antilles-Guyane, le CNR-IPG alerte la CIRE et l'ARS.

Au cours de la saison grippale 2012-2013 aucune note d'alerte n'a été diffusée. Toutefois, la détection de 2 cas positifs pour le MERS-CoV a mobilisé le CNR en lien avec les autorités sanitaires (InVS et DGS).

Un plan blanc a été déclenché en Guyane en Mars 2013 à l'occasion d'une épidémie d'origine indéterminée avec décès dans un camp d'orpaillage clandestin. A cette occasion, des prélèvements ont été adressés au CNR coordonnateur en urgence pour recherche de coronavirus qui se sont avérées négatives.

Dans le même temps, les recherches réalisées au laboratoire associé à l'IPG ont rapidement permis de conclure à une épidémie à virus influenza A(H1N1)pdm09 associée à d'autres infections dans un environnement sanitaire déficient. (cf Mosnier et al., *Am J Trop Med Hyg* . in press).

5 Activités d'information, de formation et de conseil

5.1 Enseignements, formations aux professionnels de santé, accueil de stagiaires

5.1.1 Enseignements

➤ Pr Sylvie van der WERF

En tant que Professeur à l'Université Paris Diderot, Paris 7, Sylvie van der WERF a dispensé les enseignements suivants en 2012-2013:

Université Paris Diderot, Paris 7

Infectiologie, Microbiologie, Virologie, Immunologie (IMVI) : L2

Cours 4,5h : Caractéristiques et variabilités du monde viral; Infection Virale : Généralités ; Quelques exemples de réussites virales.

Virologie : M1-IMVI – responsable de l'UE

Cours 20 h : Virologie

Immunopathologie/Relations hôte pathogènes : M1-IMVI

Cours 2h : Statut immunitaire et réponse vaccinale – vaccins grippaux

M2 IMVI- responsable du Master

UE Virologie Moléculaire et Médicale – responsable de l'UE

Cours 4h30 : Virus Influenza humains ; Stratégies antivirales pour les virus des infections aiguës : ex des Orthomyxovirus ; Tables Ronde 4h : Barrière d'espèces et Zoonoses et Lutte antivirale

UE Virologie Fondamentale – responsable de l'UE

Cours 3h : Les virus de l'Influenza ; Table Ronde 2h : demain les virus

UE Séminaires bibliographiques : audition

UE « Aspects fondamentaux et économiques de la lutte contre les pathogènes

Cours 2h : Stratégie de lutte contre les pathogènes viraux ; Table Ronde 2h : stratégies de lutte

UE « Immunologie anti-virale »

Cours 1h30 : pandémies à virus respiratoires et vaccins

Formation Continue en Biotechnologie, Université Paris Diderot Paris 7

Les virus utilisés en vectorologie : vaccination et transfert génétique

Cours 6h : vecteurs viraux : applications vaccinales

Ecole Doctorale B3MI : responsabilité de la spécialité « virologie »

Ecole Doctorale Gc2iD : co-directrice depuis 2009

ENS Ulm

Module Immunologie-Virologie L3 –coresponsable pour la virologie avec le Pr Uriel Hazan

Cours 1h30 : Introduction à la virologie

➤ **Pr Bruno LINA**

Enseignement :

Responsable de l'enseignement de la Virologie en DCEM1 pour la faculté de Médecine Lyon Est (Organisation des cours, les enseignements pratiques, des enseignements dirigés) 80h/an

Enseignement « physiopathologie des maladies infectieuses » en PCEM2 pour Lyon Est (2h)

Participation à l'enseignement des maladies infectieuses en DCEM2 pour Lyon Est (4h)

Enseignement au Master 2 Ecologie microbienne : influenza virus (2h30)

Enseignement au Master 1 physiopathologie des maladies transmissibles : variabilité des virus influenza (4h)

Participation aux Diplômes Inter-Universitaire :

Pathologie infectieuse pédiatrique : grippe chez l'enfant (2h),

Transplantation : infections respiratoires (2h),

Chimiothérapie anti-infectieuse : vaccins et antiviraux (2h)

Vaccinologie : vaccin contre la grippe (1h)

5.1.2 Séminaires, conférences grand public et relations avec la presse

➤ **Pr Sylvie van der Werf**

Conférence grand public « Grippe et Vaccin » dans le cadre de la Semaine Européenne de la Vaccination, Le Blanc-Mesnil, 19 avril 2013

Communication « Les virus de la grippe sous haute surveillance » Réunion Grands Donateurs, Institut Pasteur, Paris, 29 Novembre 2012

Séminaire « Les aspects cellulaires et moléculaires de la transmission du virus de la grippe selon l'hôte (humain, animal) » Séminaire doctoral « La dynamique et la transmission des maladies infectieuses: approches méthodologiques » École Doctorale de Santé Publique Paris-Sud - Paris Descartes 22 mai 2012, Paris

Communication « MERS-CoV l'expérience à l'Institut Pasteur », Assemblée des 100, 26 juin 2013, Institut Pasteur, Paris

Interviews pour la presse écrite et audiovisuelle

➤ **Pr Bruno Lina**

Interviews pour la presse écrite et audiovisuelle

➤ **Vincent Enouf**

Workshop Pasteur/Danone : "La qRT-PCR, un outil d'avenir ", Paris, 19 septembre 2012

Séminaire TAAS Pasteur, grand public, "La Grippe, un virus imprévisible", Paris, 7 février 2013

Interviews pour la presse écrite et audiovisuelle

5.1.3 Formation, accueil de stagiaires

Dr Emmanuel NAKOUMÉ, médecin PhD : stage de formation pour la mise en place des techniques de détection des virus A(H7N9) et MERS-CoV. Traitement de résultats de qRT-PCR de détection de virus grippaux de type B sur des prélèvements respiratoires de patients de Bangui et sur papier buvard.

5.2 Modalités de diffusion des données de la surveillance

Les résultats des analyses réalisées pour chacun des prélèvements et échantillons biologiques reçus sont communiqués par courrier au praticien ou au laboratoire qui a adressé le prélèvement au Centre.

Les données de la surveillance, collectées dans le cadre du réseau des GROG font l'objet d'un bulletin hebdomadaire préparé par la Coordination Nationale des GROG en lien avec les 2 laboratoires du CNR en métropole CNR-IPP et CNR-HCL pendant la période de surveillance active de la grippe, de la semaine 38 à 15. Chaque semaine, les CNR adressent à l'InVS les informations relatives aux types, sous-types, caractéristiques antigéniques et sensibilité aux antiviraux des virus grippaux circulants. Ces informations sont également reprises par le bulletin hebdomadaire d'information sur la grippe édité par l'InVS. Les laboratoires du CNR assurent la rédaction des données virologiques en concertation avec l'InVS pour ce bulletin.

Les données collectées dans le cadre du réseau RENAL font l'objet de bulletins d'information hebdomadaires pendant la période de surveillance active de la grippe (semaines 38 à 15) et mensuels tout au long de l'année, édités par le CNR. Pour la région Nord, le système de recueil de l'information par internet (logiciel Voozanoo "RENOG") sur un site sécurisé par mot de passe rendu opérationnel depuis la saison 2007-2008, permet aux correspondants du réseau RENAL d'intégrer et de consulter les données de la surveillance pour chacune des grandes régions à tout moment et propose également une analyse plus complète des données en temps réel. Le logiciel de recueil des données RENOG a évolué et pourra être aussi utilisé par les laboratoires hospitaliers de la Région Sud et par l'IPG. L'ensemble des données de surveillance récoltées par le CNR sera alors regroupé sur un site unique sécurisé.

5.3 Activités d'expertises auprès des instances de santé nationales et internationales

5.3.1 Activités auprès des instances de santé nationales

5.3.1.1 Ministère de la Santé et DGS

Membre du Groupe de travail « pandémie virale » de la Commission spécialisée

5.3.1.2 InVS

Membre du Comité de Pilotage « Réseau Unifié » (S. van der Werf, B. Lina)
Membre du Groupe de Travail « définition de cas » Réseau Unifié (S. van der Werf, B. Lina)

5.3.1.3 ANSM

Expertises pour le compte de l'ANSM (B. Lina, S. van der Werf)

5.3.2 Activités auprès des instances de santé internationales

5.3.2.1 EISN/ECDC

- Membre du réseau européen de surveillance de la grippe EISN (S. van der Werf, B. Lina)
 - Membre du groupe de travail "virus characterization" du réseau de laboratoires ERLI-Net (S. van der Werf)
 - External Advisor du réseau EISN auprès de l'ECDC (B. Lina)
- Membre du groupe de travail "antiviraux" du réseau de laboratoires ERLI-Net (V. Enouf, B. Lina)
- Membre du groupe de travail "contrôle qualité" du réseau de laboratoires ERLI-Net (M. Valette)
- EuroFlu 3rd annual joint WHO/ECDC influenza surveillance meeting, Istanbul, Turkey, 29-31 May 2013 (S. van der Werf, V. Enouf, B. Lina) - participation
 - Teleconference « Novel coronavirus: EU diagnostic needs and coordination of technical laboratory support actions » (S. van der Werf) - participation

5.3.2.2 OMS

- Directeur du Laboratoire de Référence de l'OMS pour le SRAS (S. van der Werf)
- Directeur du Laboratoire de Référence de l'OMS pour les virus H5 (S. van der Werf)
- Membre du Working Group on Molecular diagnostics; participation au WHO 6th PCR Working Group Meeting, 2-3 July 2013, Geneva, Switzerland (V. Enouf)
- WHO Meeting on dual use research, 26-27 february 2013 (S. van der Werf) - participation
- WHO-ECDC Teleconference "Novel coronavirus" - France, 15 May 2013 (S. van der Werf) - participation
- WHO Teleconference "MERS-CoV", 6 June 2013, (S. van der Werf) - participation
- Temporary advisor for the WHO DG's Consultation with member states (IGM for the sharing of influenza viruses and benefits) (B. Lina)
- WHO GISRS and Influenza Surveillance Meeting, 6 September 2013, Cape-Town, South Africa (S. van der Werf) - participation
- (WHO)/GISAID/isirv-AVG Training Workshop 7 September 2013, Cape-Town, South Africa (S. van der Werf) - presentation

5.3.3 Membre de réseaux et membre de conseil scientifique d'institutions extérieures

➤ Pr Sylvie van der WERF

- Vice-Présidente du réseau des Groupes Régionaux d'Observation de la Grippe (GROG)
- Membre du Conseil Scientifique du Groupe d'Etude et d'Information sur la Grippe (GEIG)
- Membre du European Scientific Working Group on Influenza (ESWI)
- Membre du réseau européen de surveillance de la grippe EISN
- Membre du groupe de travail "virus characterization" du réseau de laboratoires ERLI-Net (ECDC)
- Vice-chair working group 3 "pathogenesis" du consortium international ISARIC
- Membre du comité scientifique du antiviral group ISRV
- Editeur Associé pour la revue Eurosurveillance
- Coordinatrice du projet européen FP7-PREDEMICS

➤ Pr Bruno LINA

- Past President de L'European Society for Clinical Virology
- Membre de l'Advisory Board de l'European Society for Virology
- Président du Conseil Scientifique du Groupe d'Etude et d'Information sur la Grippe (GEIG)
- Membre de l'Association du Réseau des Groupes Régionaux d'Observation de la Grippe (GROG)
- Membre du réseau européen de surveillance de la grippe EISN
- Membre du groupe de travail "antiviral resistance" du réseau de laboratoires ERLI-Net (ECDC)

6 TRAVAUX DE RECHERCHE et publications EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR

6.1 Activités de recherche en lien direct avec l'activité du CNR

6.1.1 CNR-IPP

Les thématiques de recherche menées actuellement au sein de l'unité de Génétique Moléculaire des Virus à ARN dirigée par Sylvie van der Werf en lien avec l'activité du CNR-IPP concernent les sujets suivants :

➤ Evolution génétique des virus grippaux

Un premier volet de ces recherches a pour objectif de déterminer l'ampleur des variations génétiques au sein des populations virales pour des virus influenza de différents types et sous-types et selon leur origine en utilisant les approches de séquençage de nouvelle génération (collaboration M. Vignuzzi, Institut Pasteur, Paris). La diversité génétique est explorée pour des isolats viraux produits sur différents substrats ainsi que sur des prélèvements primaires issus de l'activité du CNR. Ces travaux ont également pour but d'identifier les éventuels déterminants et facteurs de variations de la fidélité de la polymérase virale qui détermine la diversité des populations virales (*Cyril Barbezanges, Post-doctorant, Florian Andrieux, Doctorant*). Ces travaux s'inscrivent dans le cadre du projet européen FP7-PREDEMICS coordonné par Sylvie van der Werf et du Labex IBEID (coordinateurs P. Cossart et P. Sansonetti, IP, Paris).

Un deuxième volet concerne le deuxième mécanisme de variation génétique des virus grippaux, le réassortiment. En se basant sur les travaux antérieurs relatifs aux déterminants de la spécificité de type, A versus C, localisés au sein des séquences non-codantes des segments d'ARN génomique, nous analysons la capacité de multiplication de virus grippaux de type A ou C dont l'un des segments est muni de séquences non-codantes hétérotypiques ou dérivées d'un autre segment. Ces travaux permettent de préciser les éléments des séquences non codantes conservées ou non conservées entre segments nécessaires à la multiplication virale et d'analyser leur impact sur la régulation de l'expression des gènes des segments concernés ainsi que sur l'emballage des segments génomiques dans les particules virales. Ces données devraient permettre de mieux comprendre quels sont les éléments mis en jeu lors des événements de réassortiment entre souches virales. (*B. Crescenzo-Chaigne, IR, IP*).

➤ Sensibilité aux antiviraux des virus grippaux

Les études concernent l'évaluation de l'impact de la variabilité génétique naturelle des virus grippaux sur leur sensibilité aux antiviraux et notamment aux inhibiteurs de neuraminidase. Ces études, dans le prolongement des travaux réalisés sur la N1 des virus de grippe aviaire H5N1 de clade 1 (Rameix-Welti et al. 2006) et sur les virus H1N1 saisonniers devenus naturellement résistants à l'oseltamivir en 2008 (Rameix-

Welti et al. 2008, 2011) concernent l'étude de l'impact de mutations clé seules ou en association avec des mutations de résistance sur les caractéristiques enzymatiques (K_m , V_m) de la NA, et sur la vitalité virale des virus porteurs de ces mutations. Ces études sont focalisées sur les virus H5N1 de différents clades ainsi que sur le virus H1N1pdm09. Elles incluent également la mutation I223R de la NA du virus H1N1pdm09 qui confère une résistance croisée à l'oseltamivir et le zanamivir et potentialise la résistance en présence de la mutation H275Y mise en évidence dans le cadre de la caractérisation des virus d'un patient immunodéficient en échec thérapeutique (LeGoff, Rousset et al, 2012). (*G. Abou-Jaoude, Post-doctorant*).

➤ **Immunité post-vaccinale**

Des études avec pour objectif d'évaluer la réponse immunitaire induite suite à l'infection ou la vaccination sont poursuivies. Il s'agit notamment d'évaluer l'impact de l'administration préalable de fibres sur la réponse vaccinale que la réactivité croisée de la réponse immunitaire post-infectieuse ou post-vaccinale - projet FP7-FIBEBIOTICS. (*coordinateur J.Mes*) ou encore en fonction de la voie d'administration du vaccin - projet FLUWAY (*coordinateur B. Combadière*). (*V. Enouf, CAT-IP ; S. Behillil, CAT-IP*).

➤ **Déterminants de restriction d'hôte et de transmission inter-espèces**

Cette thématique menée depuis de nombreuses années au sein de l'unité a pour objectif de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans les étapes de transmission inter-espèces et d'adaptation au nouvel hôte et tout particulièrement à l'homme. Ces études menées par le groupe de N. Naffakh et au sein de l'unité se focalisent plus particulièrement sur les déterminants portés par les ribonucléoprotéines (RNP) des virus influenza A et l'identification des interacteurs cellulaires et leur rôle fonctionnel dans la multiplication et la restriction d'hôte en s'intéressant aux virus influenza aviaires versus humains ainsi qu'au virus H1N1pdm09 et ses précurseurs. Ces travaux qui ont d'ores et déjà permis d'identifier de nouveaux interacteurs des RNP se focalisent plus particulièrement sur les mécanismes du trafic nucléocytoplasmique des RNP virales. Des approches d'interactomique à haut débit développées par le groupe de Y. Jacob, telle que l'iPCA pour l'analyse des interactions dans le contexte des cellules, permet d'envisager l'étude différentielle des réseaux d'interaction des RNP à large échelle. Ces travaux devraient aussi permettre l'identification de nouvelles cibles pour le développement d'antiviraux. Ils s'inscrivent entre autres dans le cadre du projet européen FP7 FLUPHARM (Coordinateur S. Cusack, EMBL Grenoble) (*N. Naffakh, DR2 CNRS ; S. Munier, MCU P7, G. Fournier, Post-Doctorant, C. Diot, étudiant M2, Y. Jacob, CR IP, C. Demeret, CR IP*).

➤ **MERS-CoV**

Les recherches entreprises sur le MERS-CoV ont d'une part porté sur la description des sites et de la cinétique d'excrétion du virus au cours de l'infection chez les deux patients français, montrant la présence de virus préférentiellement dans les prélèvements respiratoires profonds et mettant en évidence la possibilité de retrouver le virus dans le sang et les urines. De plus, l'analyse des séquences du premier cas français a contribué à préciser le potentiel de transmission interhumaine de ce virus. Par ailleurs, nous avons entrepris de développer des tests sérologiques à base de protéines recombinantes correspondant à tout ou partie de la protéine N et de la

protéine S (V. Enouf CAT IP, S. Behillil CA IP, Y Jacob CR IP ; coll. P. Despres, S. Petres, JC Manuguerra, Institut Pasteur).

6.1.2 CNR-HCL

Le laboratoire Virpath (EA 4610) a récemment focalisé ses projets de recherche fondamentale sur les virus influenza, tout en maintenant un lien très fort avec le CNR et le laboratoire hospitalier. En 2011-2012, le laboratoire a accueilli deux chercheurs (Pr Guy Boivin and Dr Beatrice Riteau) qui ont participé aux programmes de recherche.

Les thèmes de recherche sont l'investigation des interactions entre les segments de gène des virus lors de l'assemblage des neovirions, et lors du réassortiment. Ce travail, réalisé en collaboration avec le laboratoire de Roland Marquet que les extrémités 5' and 3' de certains segments peuvent interagir afin de construire un réseau d'interaction complexe permettant l'assemblage complet des 8 segments dans les virions nouvellement synthétisés (Fournier et al, 2012 NAR, Fournier et al Vaccine 2012). Nous avons aussi montré que ce réseau pouvait être perturbé en changeant des régions/nucleotides impliqués dans les interactions ARN/ARN, comme nous avons pu le montrer pour les virus H3N2 humains. Dans une démarche similaire, nous avons pu montrer par un travail sur les virus aviaire H5N2 que le positionnement des segments de gène est spécifique, ce qui pourrait avoir des incidences sur la possibilité de réassortiment (Gavazzi et al NAR 2013). Par une étude complémentaire en cours, nous allons tenter d'identifier les facteurs de restriction à ces événements de réassortiment, afin de comprendre quelles stratégies moléculaire doit suivre les virus aviaires et humains pour réassortir.

Le second champ de la recherche concerne l'étude de la balance Ha-Na, et l'étude des mécanismes de résistance aux Inhibiteurs de la Neuraminidase. En utilisant des virus défectifs en neuraminidase, ou présentant des substitutions associées à la résistance aux inhibiteurs de la neuraminidase, nous avons pu étudier les interactions entre les deux glycoprotéines de surface. Dans un premier temps, nous avons caractérisé l'affinité aux acides sialiques $\alpha 2-3$ et $\alpha 2-6$ des hémagglutinines des virus ayant une neuraminidase déficiente (Moules et al, Virology 2011). Nous avons secondairement étudié le rôle potentiels de combinaisons de substitutions dans les niveaux de résistance aux antiviraux, et l'impact qu'elles pouvaient avoir sur la vitalité des virus (fitness). Cette étude réalisée sur des virus isolés par le CNR, mais aussi sur des virus produits par génétique inverse. L'ensemble de ces travaux a permis de confirmer que certains associations de substitution étaient délétères pour le virus, alors que d'autres augmentent le niveau de résistance (Richard et al, Antimicrob Agents Chemother 2011, Moules et al, Virology, 2011, Richard et al, PLoS One 2012, Escuret et al, Antiviral Res, 2012), comme décrit dans certains clusters observé notamment en Australie. Ces investigations ont aussi été réalisées chez certains virus aviaires (Ferraris et al, Antiviral Res 2012). Récemment, nous avons mis en place une collaboration avec le Dr S Gamblin et le Dr J McCauley (NIMR, UK), pour décrire une nouvelle substitution associée à un haut niveau de résistance chez un virus influenza B (Escuret et al, soumis).

Depuis 2009, nous avons développé l'analyse transcriptomique des cellules infectées in vitro et in vivo. Cette étude vise à déterminer quels set d'ARN messagers cellulaires subi une modification de niveau de synthèse lors de l'infection virale. Une première approche in vitro nous a permis de mesurer l'évolution de l'expression de 8000 gènes (Josset et al, PLoSOne, 2011), et de déterminer des profils de signature transcriptomique. Par comparaison avec les données analysables à partir des bases de données disponibles (analyse in silico), nous avons recherché des molécules qui

sont responsables de signatures inverses par rapport a celles obtenues au cours de l'infection, en émettant l'hypothèse que ces molécules (médicaments) pouvaient placer la cellule dans un état réfractaire a l'infection et la réplication virale. Par cette approche, nous avons identifié 8 médicaments qui pourraient être testés en repositionnement thérapeutique. En 2011, un PHRC a été obtenu pour réaliser un essai clinique de phase 2-3 avec cette molécule (essai FLUMED). Les patients ont commencé à être inclus. (Brevet FR 2953410 – WO 2011069990 – EP2953410). Au cours de cet essai, nous avons réalisé une étude ancillaire (étude FLUNEXT) pour regarder le profil transcriptomique des patients infectés et guéris. L'analyse des profils obtenus est en cours

Enfin, nous réalisons de manière régulière de la recherche bioclinique, en association avec les cliniciens du CHU, ou les médecins appartenant au réseau GROG. Ces travaux conduisent a des publications sur le pouvoir pathogène du virus, sur l'épidémiologie des virus, sur le développement de techniques, et sur l'étude des modes de transmission de la grippe nosocomiale (exemple : Frobert et al, J Clin Virol 2011, Simon et al, Emerg Infect Dis 2013,). Une partie de ce travail est réalisé avec le stagiaire EUPHEM affecté au laboratoire (Daniel EIBACH)

Enfin, Béatrice Riteau a mis en place une étude du rôle du plasminogène dans le processus inflammatoire responsable de la destruction pulmonaire lors de formes graves de la grippe. Elle a émis l'hypothèse que les cellules endothéliales étaient responsables d'une dérégulation de la coagulation liée a une fibrinolyse intense, entraînant une dégradation rapide du clou plaquettaire au niveau des capillaires sanguins aux niveaux des sites d'infection. Cette altération serait aussi associée a une surexpression de certaines PAR (pour protease activated receptors) qui favoriseraient la réplication virale (Lebouder et al, J Gen Virol 2010, Khoufache et al, J Clin Invest 2013).

6.1.3 CNR-IPG

Projet de recherche du laboratoire de virologie de l'IPG prévu sur 3 ans de 2013 à 2016, et réalisé en collaboration avec le Centre hospitalier de Cayenne et la CIBU à l'IPP. Ce projet vise à étudier les syndromes cliniques sévères d'allure virale non étiquetés. Basé sur une démarche prospective, ce projet a pour objectif principal d'identifier des virus à potentiel émergent ou ré-émergent chez des patients présentant différents types de symptomatologie clinique (atteinte cérébrale de type encéphalite, atteintes pulmonaire, hépatorénale, hémorragique ou multiviscérale) en s'appuyant sur des techniques d'immunologie, de biologie cellulaire mais également de biologie moléculaire classique et de haut-débit.

6.2 Publications et communications en lien direct avec l'activité du CNR

6.2.1 Publications nationales

Equipes de surveillance de la grippe*, Belchior E. Surveillance épidémiologique et virologique de la grippe en France métropolitaine, saison 2012-2013. BEH 2013; 32 : 394-401.

Lina B, Riteau B. Antagonistes de PAR1 - Vers une nouvelle stratégie de lutte contre la grippe. Med Sci (Paris) 2013;29:107-9.

Payet C, Lutringer-Magnin D, Cassier P, Lina B, Argaud L, Allaouchiche B, et al. Description des cas confirmés de grippe A(H1N1)pdm09 admis en réanimation et identification des facteurs de gravité Med Mal Infect 2013;43:81-4.

Petit-Sinturel M, Najouillah F, Herrmann C, Enfissi A, Romagne MJ, De Saint Alary F, Boucaud S, Chappert JL, Ledrans M. Bilan de la saison grippale 2012-2013 aux Antilles : Guadeloupe, Martinique, St-Martin et St-Barthélemy. *Bulletin de Veille Sanitaire Antilles Guyane*. 2013;2:7-12.

6.2.2 Publications internationales

Amour S, Voirin N, Régis C, Bouscambert-Duchamp M, Comte B, Coppéré B, et al. Influenza vaccine effectiveness among adult patients in a University of Lyon hospital (2004-2009). Vaccine 2012;30:821-4.

Barrau M, Larrieu S, Cassadou S, Chappert JL, Dussart P, Najouillah F, Matheus S, Renner J, Gasc C, Quenel P, Ledrans M. Hospitalized cases of influenza A(H1N1)pdm09 in the French territories of the Americas, July 2009-march 2010. Rev. Panam. Salud Public, 2012. 32(2) : 124-30.

Bénet T, Régis C, Voirin N, Robert O, Lina B, Cronenberger S, Comte B, Coppéré B, Vanhems P. 2012 Influenza vaccination of healthcare workers in acute-care hospitals: a case-control study of its effect on hospital-acquired influenza among patients. BMC Infect Dis. ;12:30.

Blanchon T, Mentré F, Charlois-Ou C, Dornic Q, Mosnier A, Bouscambert M, Carrat F, Duval X, Enouf V, Leport C; Bivir Study Group. Factors associated with clinical and virological response in patients treated with oseltamivir or zanamivir for influenza A during the 2008-2009 winter. Clin Microbiol Infect. 2013 Feb;19(2):196-203

Bonduelle O, Yahia N, Siberil S, Benhabiles N, Carrat F, Krivine A, Rozenberg F, Dimitrov J, Kaveri SV, Curjol A, Tindel M, Louet M, Desert F, Launay O, Louergue P, Badre G, Katlama C, Bricaire F, Samri A, Rousset D, van der Werf S, Jauréguiberry S, Combadiere B. Longitudinal and integrative biomodeling of effector and memory immune compartments after inactivated influenza vaccination. J Immunol. 2013 Jul 15;191(2):623-31.

Bone A, Guthmann JP, Assal A, Rousset D, Degeorges A, Morel P, et al. Incidence of H1N1 2009 virus infection through the analysis of paired plasma specimens among blood donors, France. PLoS One 2012;7:e33056.

Carrat F, Duval X, Tubach F, Mosnier A, van der Werf S, Tibi A, Blanchon T, Leport C, Flahault A, Mentré F; the BIVIR study group. Effect of oseltamivir, zanamivir or oseltamivir-zanamivir combination treatments on transmission of influenza in households. Antivir Ther. 2012;17(6):1085-1090.

Cauchemez S, Fraser C, Van Kerkhove MD, Donnelly CA, Riley S, Rambaut A, Enouf V, van der Werf S, Ferguson NM. Middle East respiratory syndrome coronavirus: quantification of the extent of the epidemic, surveillance biases, and transmissibility. Lancet Infect Dis. 2014 Jan;14(1):50-6.

Crescenzo-Chaigne B, Barbezange C, van der Werf S. The Panhandle formed by influenza A and C virus NS non-coding regions determines NS segment expression. PLoS One. 2013 Nov 21;8(11):e81550.

Delangue J, Salez N, Ninove L, Kieffer A, Zandotti C, Seston M, et al. Serological study of the 2009 pandemic due to influenza A H1N1 in the metropolitan French population. Clin Microbiol Infect 2012;18:177-83.

Desdouits M, Munier S, Prevost MC, Jeannin P, Butler-Browne G, Ozden S, Gessain A, Van Der Werf S, Naffakh N, Ceccaldi PE. Productive infection of human skeletal muscle cells by pandemic and seasonal influenza A(H1N1) viruses. PLoS One. 2013 Nov 5;8(11):e79628.

Durier C, Desaint C, Lucht F, Girard PM, Lévy Y, May T, Michelet C, Rami A, Roman F, Delfraissy JF, Aboulker JP, Launay O; ANRS 151 study group and the REIVAC network. Long-term immunogenicity of two doses of 2009 A/H1N1v vaccine with and without AS03(A) adjuvant in HIV-1-infected adults. AIDS. 2013 Jan 2;27(1):87-93.

Eibach D, Casalegno JS, Escuret V, Billaud G, Mekki Y, Frobert E, Bouscambert-Duchamp M, Lina B, Morfin F. 2012 Increased detection of Mycoplasma pneumoniae infection in children, Lyon, France, 2010 to 2011. Euro Surveill 2012 .;17

Escuret V, Cornu C, Boutitie F, Enouf V, Mosnier A, Bouscambert-Duchamp M, et al. Oseltamivir-zanamivir bitherapy compared to oseltamivir monotherapy in the treatment of pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus infections. Antiviral Res 2012;96:130-7.

Ferraris O, Escuret V, Bouscambert M, Casalegno JS, Jacquot F, Raoul H, Caro V, Valette M, Lina B, Ottmann M. 2012 H1N1 influenza A virus neuraminidase modulates infectivity in mice. Antiviral Res. 93:374-80.

Feuillet F, Lina B, Rosa-Calatrava M, Boivin G. Ten years of human metapneumovirus research. J Clin Virol 2012;53:97-105.

Fournier E, Moules V, Essere B, Paillart JC, Sirbat JD, Cavalier A, et al. Interaction network linking the human H3N2 influenza A virus genomic RNA segments. Vaccine 2012;30:7359-67.

Fournier E, Moules V, Essere B, Paillart JC, Sirbat JD, Isel C, Cavalier A, Rolland JP, Thomas D, Lina B, Marquet R. 2012 A supramolecular assembly formed by influenza A virus genomic RNA segments. *Nucleic Acids Res*;40:2197-209.

Gavazzi C, Isel C, Fournier E, Moules V, Cavalier A, Thomas D, et al. An in vitro network of intermolecular interactions between viral RNA segments of an avian H5N2 influenza A virus: comparison with a human H3N2 virus. *Nucleic Acids Res* 2013;41:1241-54.

Guery B, Poissy J, el Mansouf L, Séjourné C, Ettahar N, Lemaire X, Vuotto F, Goffard A, Behillil S, Enouf V, Caro V, Mailles A, Che D, Manuguerra JC, Mathieu D, Fontanet A, van der Werf S; MERS-CoV study group. Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission. *Lancet*. 2013 Jun 29;381(9885):2265-72.

Guery B, van der Werf S. Coronavirus: need for a therapeutic approach. *Lancet Infect Dis*. 2013 Sep;13(9):726-7.

Guihot A, Luyt CE, Parrot A, Rousset D, Cavaillon JM, Boutolleau D, Fitting C, Pajanirassa P, Mallet A, Fartoukh M, Agut H, Musset L, Zoorob R, Kirilowksy A, Combadière B, van der Werf S, Autran B, Carcelain G and the FluBAL study group. Low titers of serum antibodies inhibiting hemagglutination predict fatal fulminant influenza A(H1N1) 2009 infection. *Am J Respir Crit Care Med* in press.

Heraud JM, Njouom R, Rousset D, Kadjo H, Caro V, Ndiaye MN, Victoir K, Collard JM, Orelle A, Yekwa EL, Ekaza E, Razanajatovo NH, Adamou L, Biscornet L, Enouf V, van der Werf S, Diop OM. Spatiotemporal circulation of influenza viruses in 5 African countries during 2008-2009: a collaborative study of the Institut Pasteur International Network. *J Infect Dis*. 2012 Dec 15;206 Suppl 1:S5-13.

Huoi C, Casalegno JS, Bénet T, Neuraz A, Billaud G, Eibach D, et al. A report on the large measles outbreak in Lyon, France, 2010 to 2011. *Euro Surveill* 2012;17:20264.

JM. Heraud J-M.*, R. Njouom*, D. Rousset*, H. Kadjo, V. Caro, M. Niang Ndiaye, K. Victoir, J. Collard, A. Orelle, E. Laban Yekwa, E. Ekaza, N. Harline Razanajatovo, L. Adamou, L. Biscornet, V. Enouf, S. van der Werf, and O. Madiagne Diop. 2012. Spatiotemporal Circulation of Influenza Viruses in Five African Countries during the 2008-2009 Period: a Collaborative Study of the Institut Pasteur International Network. *Journal of Infectious Diseases*. *J Infect Dis*. 206 Suppl 1:S5-13.

Jubin V, Ventre E, Leverrier Y, Djebali S, Mayol K, Tomkowiak M, Mafille J, Teixeira M, Teoh DY, Lina B, Walzer T, Arpin C, Marvel J. 2012, T inflammatory memory CD8 T cells participate to antiviral response and generate secondary memory cells with an advantage in XCL1 production., *Immunol Res*.;52:284-93.

Launay O, Krivine A, Charlier C, Truster V, Tsatsaris V, Lepercq J, Ville Y, Avenell C, Andrieu T, Rozenberg F, Artiguebielle F, Tréluyer JM, Goffinet F; Inserm COFLUPREG Study Group. Low rate of pandemic A/H1N1 2009 influenza infection and lack of severe complication of vaccination in pregnant women: a prospective cohort study. *PLoS One*. 2012;7(12):e52303.

Le Bayon JC, Lina B, Rosa-Calatrava M, Boivin G. Recent developments with live-attenuated recombinant paramyxovirus vaccines. Rev Med Virol 2013;23:15-34.

Le Bayon JC, Terrier O, Cartet G, Lina B, Rosa-Calatrava M. Characterization of a key residue for hyperfusogenic phenotype in human parainfluenza virus type 2 (hPIV-2) fusion glycoprotein. Virus Genes 2013.

Legoff J, Rousset D, Abou-Jaoudé G, Scemla A, Ribaud P, Mercier-Delarue S, Caro V, Enouf V, Simon F, Molina JM, van der Werf S. I223R Mutation in Influenza A(H1N1)pdm09 Neuraminidase Confers Reduced Susceptibility to Oseltamivir and Zanamivir and Enhanced Resistance with H275Y. PLoS One. 2012;7(8):e37095.

Luytjes W, Enouf V, Schipper M, Gijzen K, Liu WM, van der Lubben M, Meijer A, van der Werf S, Soethout EC. HI responses induced by seasonal influenza vaccination are associated with clinical protection and with seroprotection against non-homologous strains. Vaccine. 2012 Jul 27;30(35):5262-9. Epub 2012 Jun 9.

Mahamat A., Dussart P., Bouix A., Carvalho L., Eltges F., Matheus S., Miller MA., Alonso WJ., Quénel P., Viboud C. Climatic drivers of the seasonal epidemic of influenza in French Guiana, 2006-2010. J Infection. 2013 :1-7.

Mailles A, Blanckaert K, Chaud P, van der Werf S, Lina B, Caro V, Campese C, Guéry B, Prouvost H, Lemaire X, Paty MC, Haeghebaert S, Antoine D, Ettahar N, Noel H, Behillil S, Hendricx S, Manuguerra JC, Enouf V, La Ruche G, Semaille C, Coignard B, Lévy-Bruhl D, Weber F, Saura C, Che D; investigation team. First cases of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) infections in France, investigations and implications for the prevention of human-to-human transmission, France, May 2013. Euro Surveill. 2013 Jun 13;18(24).

Mailles A, Blanckaert K, Chaud P, van der Werf S, Lina B, Caro V, et al. First cases of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) infections in France, investigations and implications for the prevention of human-to-human transmission, France, May 2013. Euro Surveill 2013;18.

Martirosyan L, Paget WJ, Jorgensen P, Brown CS, Meerhoff TJ, Pereyaslov D, Mott JA; EuroFlu group. 2012 The community impact of the 2009 influenza pandemic in the WHO European region: a comparison with historical seasonal data from 28 countries. BMC Infect Dis. 2012 Feb 10;12:36.

Mosnier E, Mahamat A, Carvalho L, Nacher M, Abboud P, Chappert JL, Rousset D, Djossou F. Concurrent influenza and shigellosis outbreak in a gold mining site, French Guiana, March 2013. Am J Trop Med Hyg . in press.

Opatowski L, Varon E, Dupont C, Temime L, van der Werf S, Gutmann L, Boëlle PY, Watier L, Guillemot D. Assessing pneumococcal meningitis association with viral respiratory infections and antibiotics: insights from statistical and mathematical models. Proc Biol Sci. 2013 Jun 19;280(1764):20130519.

Ploin D, Chidiac C, Carrat F, Cohen B, Javouhey E, Mayaud C, et al. Complications and factors associated with severity of influenza in hospitalized children and adults

during the pandemic wave of A(H1N1)pdm2009 infections-The Fluco French cohort. J Clin Virol 2013;58:114-9.

Pozo F, Lina B, Andrade HR, Enouf V, Kossyvakis A, Broberg E, et al. Guidance for clinical and public health laboratories testing for influenza virus antiviral drug susceptibility in Europe. J Clin Virol 2013;57:5-12.

Richard M, Erny A, Caré B, Traversier A, Barthélémy M, Hay A, et al. Rescue of a H3N2 influenza virus containing a deficient neuraminidase protein by a hemagglutinin with a low receptor-binding affinity. PLoS One 2012;7:e33880.

Rudrawar S, Kerry PS, Rameix-Welti MA, Maggioni A, Dyason JC, Rose FJ, van der Werf S, Thomson RJ, Naffakh N, Russell RJ, von Itzstein M. Synthesis and evaluation of novel 3-C-alkylated-Neu5Ac2en derivatives as probes of influenza virus sialidase 150-loop flexibility. Org Biomol Chem. 2012 Nov 21;10(43):8628-39.

Shahin K, Lina B, Billaud G, Pedone C, Faure-Contier C. Successful H1N1 influenza vaccination of children receiving chemotherapy for solid tumors. J Pediatr Hematol Oncol 2012;34:e228-31.

Simon M, Hernu R, Cour M, Casalegno JS, Lina B, Argaud L. Fatal influenza A(H1N1)pdm09 encephalopathy in immunocompetent man. Emerg Infect Dis 2013;19:1005-7.

Terrier O, Marcel V, Cartet G, Lane DP, Lina B, Rosa-Calatrava M, et al. Influenza A viruses control expression of proviral human p53 isoforms p53 α and Delta133p53 β . J Virol 2012;86:8452-60.

Terrier O, Moules V, Carron C, Cartet G, Frobert E, Yver M, et al. The influenza fingerprints: NS1 and M1 proteins contribute to specific host cell ultrastructure signatures upon infection by different influenza A viruses. Virology 2012;432:204-18.

Vittecoq M, Grandhomme V, Champagnon J, Guillemain M, Crescenzo-Chaigne B, Renaud F, Thomas F, Gauthier-Clerc M, van der Werf S. High influenza A virus infection rates in mallards bred for hunting in the camargue, South of France. PLoS One. 2012;7(8):e43974.

Vittecoq M, Grandhomme V, Simon G, Herve S, Blanchon T, Renaud F, Thomas F, Gauthier-Clerc M, van der Werf S. Study of influenza A virus in wild boars living in a major duck wintering site. Infect Genet Evol. 2012 Mar;12(2):483-6. Epub 2011 Dec 17.

Whitley RJ, Boucher CA, Lina B, Nguyen-Van-Tam JS, Osterhaus A, Schutten M, et al. Global assessment of resistance to neuraminidase inhibitors, 2008-2011: the Influenza Resistance Information Study (IRIS). Clin Infect Dis 2013;56:1197-205.

WHO Writing Group, Ampofo WK, Baylor N, Cobey S, Cox NJ, Daves S, Edwards S, Ferguson N, Grohmann G, Hay A, Katz J, Kullabutr K, Lambert L, Levandowski R, Mishra AC, Monto A, Siqueira M, Tashiro M, Waddell AL, Wairagkar N, Wood J, Zambon M, Zhang W. Improving influenza vaccine virus selection: report of a WHO informal consultation held at WHO headquarters, Geneva, Switzerland, 14-16 June 2010. Influenza Other Respi Viruses. 2012 Mar;6(2):142-52

6.2.3 Communications nationales

Mosnier A, van der Werf S, Lina B, Valette M, Enouf V, Debost E, Cohen JM. Saison grippale 2012-2013 : 3 virus pour une épidémie. Poster, 14es Journées Nationales d'Infectiologie (JNI), Clermont-Ferrand, 14 juin 2013

Picard C, Escuret V, de Saint Jean P, Casalegno JS, Lina B, Valette M. Comparative evaluation of bioNexia® influenza A+B to Quickvue® influenza A+B test for the detection of influenza in pediatric samples. Poster, 31st Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases (ESPID), Milan (Italy), 28 mai-1er juin 2013

Eibach D, Bouscambert M, Casalegno JS, Gazeu, Escuret V, Frobert E, Gillet Y, Javouhey E, Lina B, Morfin F. Clinical characteristics and macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* infections, 2009-2012, France. Poster, 23e ECCMID, Berlin (Allemagne), 27-30 avril 2013

Tagajdid R, Casalegno JS, Eibach D, Lina B, Mrani S, Valette M, Mekki Y. Serological diagnosis for influenza: comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), complement fixation and haemagglutination inhibition essay. Poster, 23e ECCMID, Berlin (Allemagne), 27-30 avril 2013

Casalegno JS, Eibach D, Ottmann M, Lina B. 11 years of Pubmed trends for infectious microorganisms: influenza in the fast lane. Poster, 23e ECCMID, Berlin (Allemagne), 27-30 avril 2013

Boucher C, Dutkowslo R, Ives J, Klumpp K, Lina B, Monto A, Osterhaus A, Nguyen-Van-Tam J, Schutten M, Tong X, Whitley RJ. Symptom resolution is significantly faster in oseltamivir-treated than untreated patients in year 4 of the influenza resistance information study (IRIS). Communication orale, XVI International Symposium on Respiratory Viral Infections (ISRVI), Rotterdam (Pays Bas), 14-17 mars 2013

6.2.4 Communications Internationales

Picard C, Escuret V, Casalegno JS, Lina V, Valette M. Comparison of bioNexia® influenza A+B to Quickvue® influenza A+B test for the detection of influenza in clinical samples. Communication orale, Poster, 32e RICAI, CNIT Paris, 22 & 23 novembre 2012

Boucher Charles [...] Lina B. Emergence of Oseltamivir resistance in patients with influenza A infections in the influenza resistance information study (IRIS) is age-related and has little effect on clinical outcomes. Communication orale, IDWeek 2012, San Diego (Californie), 17-21 octobre 2012

Vanhems P, Régis C, Barrat A, Cattuto C, Pinton JF, Khanafer N, Escuret V, Lina B, Voirin N. Using wearable electronic sensors for hospital acquired infection. Communication, ID Week 2012, San Diego (Californie), 17-21 octobre 2012

Schutten M, Boucher C, Dutkowski R, Klumpp K, Lina B, Monto A, Nist A, Osterhaus A, Nguyen-Van-Tam J, Tong X, Whitley RJ. Emergence of oseltamivir resistance in patients with influenza A infections in the Influenza Resistance Information Study (IRIS) is age-related and has little effect on clinical outcomes. Communication orale, , ID Week 2012, San Diego (Californie), 17-21 octobre 2012

Schutten M, Boucher C, Dutkowski R, Klumpp K, Lina B, Monto A, Nist A, Nguyen-Van-Tam J, Osterhaus A, Tong X, Whitley RJ. Lack of emergence resistance to oseltamivir despite antiviral activity in the type B influenza patients in the first 3 years of the influenza resistance information Study (IRIS). Communication orale, 2012, San Francisco, Californie (USA), 9-12 septembre 2012

Silva ML, Ciblak MA, Fleming DM, Paget WJ, Mosnier A, Lina B, Enouf V, Badur S, Cohen JM. Different dominant influenza B lineages circulating in France and Turkey during the 2010-2011 winter. Poster, ISIRV, Munich (Allemagne), 6-8 septembre 2012

Marquet R, Gavazzini C, Yver M, Rosa-Clatra M, Lina B, Isel C, Moules M. An intramolecular RNA interaction required for selective packaging of the segmented influenza A genome. Abstract, 3d Influenza International Meeting, Munster (Germany), 2-4 septembre 2012

6.2.5 Communications Nationales sur invitation

van der Werf S. Marqueurs moléculaires de la transmission du virus de la grippe A au sein, et entre espèces. *Séminaire IMMI de recherche sur la transmission* 22 mars 2012, Les Vaux de Cernay, France.

van der Werf S. Modifications de la Pathogénicité des Virus Grippaux et conditions de leur manipulation. Réunion du Comité Scientifique du Haut Conseil des Biotechnologies, 5 Mars 2013, Paris

van der Werf S. Mutations in H5N1 viruses. 25èmes Rencontres sur la grippe et sa prévention (GEIG), 24 octobre 2012

Lina B, Duval X. Traitement antiviral au cours de la grippe : les enseignements de l'épidémie à H1N1v. Communication orale, 56^e Journée de l'Hôpital Claude Bernard, Paris 18^e, 14 novembre 2013

Lina B. Invitation Table Ronde, Assises Nationales du Vaccin, Paris, 7 novembre 2013

Lina B. Épidémiologie et aspects virologiques. Communication orale sur invitation, 14^{es} Journées Nationales d'Infectiologie (JNI), Clermont-Ferrand, 14 juin 2013

6.2.6 Communications Internationales sur invitation

Lina B. Antiviral discovery: the different strategies. Communication sur Invitation, "Focus on Infectious Diseases, Innovation Day, 1-3 octobre 2012

van der Werf S. Viral Structure and Replication. *Summer School on Influenza*, 17 July 2012, Siena, Italy.

van der Werf S. Influenza Severity and Virus Characterization. *Incidence, Severity and Impact isirv International Conference on Seasonal and Pandemic Influenza*, 5-8 October 2012, Munich, Germany.

van der Werf S. Étude de la transmissibilité des virus H5N1 : objectifs de la recherche. *Session La grippe fait encore parler d'elle The flu is making waves again RICAI 2012*, 22-23 novembre 2012, Paris

van der Werf S. From SARS- to MERS-CoV How do they differ? *IBEID 3rd Annual Meeting*, 21 June 2013, Paris, France

van der Werf S. Update on the French cases of MERS-CoV. *Annual Meeting EMPIRIE*, 27-28 May 2014, Rotterdam, The Netherlands.

6.2.7 Comité scientifique ou d'organisation de congrès ou colloques

Rencontres sur la grippe, GEIG, Novembre 2012 (B. Lina, S. van der Werf,)

Journée Nationale des GROG (S. van der Werf, B. Lina)

Options for the Control of Influenza VIII, 5-10 september **2013**, Cape Town, South Africa (S. van der Werf)

Congrès ESV, septembre 2012, membre du Sceintific advisory board (B. Lina)

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale

Suite à l'émergence du virus A(H7N9) en Chine, le CNR a reçu la souche référence A/Anhui/1/2013 du CCOMS de Londres. Un aliquot de culture titrée de cette souche a été envoyé au Laboratoire National de Référence pour l'influenza aviaire à Ploufragan à la demande du Pr Véronique JESTIN afin de valider des tests sérologiques chez la volaille.

8 Programme d'activité pour les années 2012-2013 et 2013-2014

Globalement, les activités seront poursuivies comme précédemment en tenant compte des possibles évolutions virales et seront adaptées si besoin suite à l'apparition ou l'émergence d'un nouveau virus.

L'harmonisation des techniques existantes entre les trois laboratoires du CNR sera poursuivie, notamment par échange des protocoles des RT-PCR temps réel disponibles.

➤ Détection virale

L'harmonisation des techniques moléculaires est déjà largement en place pour les CNR-IPP et CNR-HCL. Pour le CNR-IPG il s'agira notamment d'élargir le panel de qRT-PCR disponibles (par ex pour la détection des virus aviaires de sous-type H9). Le CNR s'attachera à développer autant que de besoin des qRT-PCR pour l'ensemble des sous-types de virus influenza zoonotiques susceptibles d'infecter l'homme (ex : H10N8, H6N1, etc..). Dans la mesure du possible, le CNR-IPP fournira les témoins nécessaires, notamment sous forme de transcrits synthétiques ou de plasmides et les laboratoires du CNR fourniront un appui technique aux laboratoires hospitaliers autant que de besoin.

➤ Isolement, et identification

L'isolement viral restera une priorité en vue de la caractérisation antigénique fine des isolats et de leur caractérisation génétique complète. Pour le CNR-IPG, dans l'attente de la disponibilité d'un LBS2, les prélèvements continueront d'être adressés au CNR-IPP en vue de l'isolement viral. Outre la réalisation de l'isolement pour une sélection représentative en termes spatio-temporels ainsi que le cas échéant en termes de type et sous-type viral, on privilégiera comme précédemment l'isolement à partir des prélèvements des formes graves notamment de patients sans facteurs de risque et sans complications bactériennes (recherche de déterminants de virulence); des cas d'échec de traitement (recherche de résistances aux antiviraux); des cas d'échec vaccinal (variants antigéniques).

En ce qui concerne l'identification des virus par test d'inhibition d'hémagglutination, afin de prendre en compte les évolutions récentes des virus A(H3N2) dont certains présentent la capacité d'attachement au récepteur via leur neuraminidase et non pas seulement via leur hémagglutinine, rendant difficile leur caractérisation antigénique

par test IHA, nous chercherons à développer des stratégies d'analyse alternatives applicables en routine.

➤ **Caractérisation génétique des virus influenza**

La caractérisation génétique des virus soit à partir des isolats soit directement à partir des prélèvements sera poursuivie comme précédemment en mettant l'accent sur les gènes HA (cible principale des anticorps neutralisants), NA (cible des anticorps et cible des antiviraux inhibiteurs de la NA), M2 (cible des antiviraux amantadine et rimantadine) et le séquençage de génomes complets ciblera plus particulièrement les isolats de cas graves.

Le CNR-IPP poursuivra la recherche de polymorphismes particuliers par pyroséquençage et de nouveaux tests de pyroséquençage seront développés pour la recherche de mutations de réduction de la sensibilité aux antiviraux pour les virus de type B et en cas d'apparition de nouveaux polymorphismes ayant un impact sur le tropisme, la virulence ou la sensibilité aux antiviraux. Parallèlement, l'accent sera mis au CNR-IPP sur l'utilisation des nouvelles techniques de séquençage (NGS) permettant l'analyse de la diversité des populations virales afin d'évaluer son apport dans le suivi de l'évolution virale dans le cadre de la surveillance.

En termes d'étude de la sensibilité aux antiviraux, les tests seront étendus aux nouveaux antiviraux récemment mis sur le marché tels que peramivir (Japon, Corée du Sud) et lananamivir (Japon) dès que ceux-ci seront disponibles au CNR.

➤ **Analyses sérologiques**

Les analyses sérologiques seront maintenues pour le CNR-IPP et le CNR-HCL en appliquant les techniques d'inhibition d'hémagglutination et de microneutralisation comme par le passé. L'apport des techniques de mise en évidence des anticorps anti-neuraminidase sera étudié.

La possibilité de développement de méthodologies haut débit moins consommatrices de sérum continueront d'être explorées.

➤ **Activités de surveillance**

Le CNR poursuivra comme par le passé les activités de surveillance virologique concertée en population générale comme en milieu hospitalier.

Les efforts seront poursuivis pour améliorer le recueil des données cliniques associées aux prélèvements ou souches en provenance des hôpitaux. Par ailleurs, l'évolution des outils informatiques de recueil de données sera poursuivie notamment pour ce qui concerne le système de recueil des données microbiologiques et sérologiques auprès des correspondants du réseau RENAL par Internet (logiciel Voozoo développé par Epiconcept) avec pour objectif d'aboutir à la mise en place d'un système de recueil unique pour les trois laboratoires du CNR. Cet outil servira de base pour l'édition des différents bulletins ainsi que pour la transmission des données hebdomadaires à l'attention des autorités de santé nationales et internationales.

Parallèlement, en métropole, les CNR-IPP et -HCL continueront à s'investir en lien avec l'InVS et la DGS et avec les différents acteurs impliqués dans la surveillance de la grippe (CNR, Coordination Nationale des GROG, réseau Sentinelles), dans les

efforts de concertation avec pour objectif la mise en place d'un réseau unifié de surveillance de la circulation des virus grippaux dans la population.

➤ **Démarche Qualité**

Les trois laboratoires du CNR poursuivront leur mobilisation de façon concertée pour l'établissement du dossier de demande d'accréditation partielle selon le référentiel NF EN ISO 15189 ainsi que pour la mise en place des différents dossiers de validations des méthodes moléculaires et de réponses à apporter pour répondre à ce référentiel.