

**Rapport annuel
d'activité**

2016

**Centre national de
référence des virus
influenzae**

**Saison
2015-2016**

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	Evaluation des Tests Rapides d'Orientation Diagnostic TROD	11
2.1.2	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	11
2.2	Analyses virologiques au cours de la saison 2015-2016	13
2.2.1	Collection et analyses virologiques d'échantillons cliniques	13
2.2.1.1	Analyses virologiques d'échantillons cliniques humains (surveillance saisonnière)	13
2.2.1.2	Analyses virologiques d'échantillons cliniques humains (virus émergents)	19
2.2.1.3	Collection de souches de virus influenza aviaire	20
2.2.1.4	Collection de prélèvements provenant d'études ou de firmes	20
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	23
2.2.2.2	Test fluorimétrique (phénotypique)	23
2.2.3	Distribution de matériel biologique.....	24
3	Activités de surveillance	26
3.1	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	26
3.1.1	Surveillance en Métropole	26
3.1.1.1	Réseaux.....	26
3.1.1.2	Les prélèvements.....	31
3.1.1.3	Données d'activité médicale et sanitaire	31
3.1.1.4	Surveillance virologique	33
3.1.1.5	Contribution à la surveillance microbiologique et épidémiologique des autres agents pathogènes responsables d'infections respiratoires aiguës.....	45
3.1.2	Surveillance en Région Antilles-Guyane	52
3.1.2.1	Réseau de partenaires.....	52
3.2	Détection et investigation de cas groupés et de phénomènes anormaux.....	60
3.3	Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	60
3.4	Contribution aux réseaux de surveillance européen et internationaux	61
3.4.1	EISN/ECDC	61
3.4.2	FluNet/OMS.....	61
3.4.1	Contrôle de Qualité	61
3.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	62
4	Alerte	62
5	Activités d'information, de formation et de conseil.....	62
5.1	Enseignements, formations aux professionnels de santé, accueil de stagiaires.....	62
5.1.1	Enseignements.....	62
5.1.2	Séminaires, conférences grand public et relations avec la presse	63
5.1.3	Formation, accueil de stagiaires	64
5.2	Modalités de diffusion des données de la surveillance	64
5.3	Activités d'expertises auprès des instances de santé nationales et internationales	65

5.3.1	Activités auprès des instances de santé nationales.....	65
5.3.1.1	Ministère de la Santé, DGS, DGT	65
5.3.1.2	InVS/SPFrance	65
5.3.1.1	ANSES.....	65
5.3.1.2	ANSM	65
5.3.1.3	Activités auprès des instances de santé nationales et régionales (DFA)	65
5.3.2	Activités auprès des instances de santé internationales	65
5.3.2.1	EISN/ECDC.....	65
5.3.2.2	OMS	66
5.3.3	Membre de réseaux et membre de conseil scientifique d'institutions extérieures	66
6	TRAVAUX DE RECHERCHE et publications EN LIEN DIRECT AVEC L'ACTIVITE DU CNR .	67
6.1	Activités de recherche en lien direct avec l'activité du CNR	67
6.1.1	CNR-IPP	67
6.1.2	CNR-HCL.....	69
6.2	Publications et communications en lien direct avec l'activité du CNR	72
6.2.1	Publications nationales.....	72
6.2.2	Publications internationales	73
6.2.3	Communications nationales	75
6.2.4	Communications Internationales	76
6.2.5	Communications Nationales sur invitation.....	76
6.2.6	Communications Internationales sur invitation et présidence de sessions	77
6.2.7	Comité scientifique ou d'organisation de congrès ou colloques	78
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale	78
8	Programme d'activité pour les années 2016-2017 et 2017-2018.....	78

Figures

Figure 1 : Suspicion MERS-CoV - Répartition de la provenance	19
Figure 2 : Suspicion MERS-CoV - Autres étiologies	20
Figure 3 : Représentation géographique des médecins généralistes Sentinelles ayant participé à la surveillance virologique des syndromes grippaux saison 2015-2016, par région (Source réseau Sentinelles)	28
Figure 4 : Représentation géographique des pédiatres Sentinelles ayant participé à la surveillance virologique des syndromes grippaux saison 2015-2016, par région (Source réseau Sentinelles)	29
Figure 5 : Syndromes grippaux (GC) pour 100 000 habitants et pourcentage de virus grippaux détectés en médecine générale (Réseau Sentinelles) – période 40/2015-20/2016	32
Figure 6 : Syndrome grippaux (GC) pour 100 000 habitants par tranches d'âge en France	33
Figure 7 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France	34
Figure 8 : <i>Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Nord</i>	34
Figure 9 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Sud	35
Figure 10 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France	36
Figure 11 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Nord	36
Figure 12 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Sud	37
Figure 13 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France	37
Figure 14 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Nord	38
Figure 15 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Sud	38
Figure 16 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France	39
Figure 17 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Nord	39
Figure 18 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Sud	40
Figure 19 : Détection du VRS en France	45
Figure 20 : Détection du VRS en France-Nord	46
Figure 21 : Détection du VRS en France-Sud	46
Figure 22 : Détection des rhinovirus humains en France	47
Figure 23 : Détection des rhinovirus humains en France-Nord	48
Figure 24 : Détection des rhinovirus humains en France-Sud	48
Figure 25 : Détection des adénovirus en France	49
Figure 26 : Détection des virus parainfluenza en France	50
Figure 27 : Détection des métapneumovirus humains en France	51
Figure 28 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal ...	53
Figure 29 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal ...	53
Figure 30 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal ..	54
Figure 31 : Détection des virus grippaux en région Antilles Guyane CNR-IPG / saison 2015-2016	55
Figure 32 : Détection des virus grippaux en Guyane - CNR-IPG / saison 2015-2016 (semaines 2015-40 à 2016-39)	56
Figure 33 : Détection des virus grippaux aux Antilles (Martinique + Guadeloupe)	56
Figure 34 : Répartition des virus grippaux détectés en région Antilles-Guyane	58
Figure 35 : Répartition des virus grippaux détectés en Guyane	58
Figure 36 : Répartition des virus grippaux détectés aux Antilles (Martinique et Guadeloupe) CNR-IPG / saison 2015-2016	59

Tableaux

Tableau 1 : Bilan des prélèvements analysés par les CNR-IPP et -HCL	17
Tableau 2 : Bilan des prélèvements analysés par le CNR-IPG	18
Tableau 3 : Sérums de furets post-infectieux et souches reçus par les CNR-IPP et -HCL	22
Tableau 4 : Résultats des tests phénotypiques de sensibilité à l'oseltamivir (CNR-IPP, -HCL)	24
Tableau 5 : Composition des médecins généralistes et des pédiatres du Réseau Sentinelles par région ayant réalisé au moins un prélèvement et proportion par rapport aux généralistes et pédiatres en exercice dans la région - France, saison 2015-2016. Source : Réseau Sentinelles	27
Tableau 6 : Liste des pathogènes	30
Tableau 7 : Distribution par âge des patients – Réseau Sentinelles	42
Tableau 8 : Distribution par tranche d'âge et par (sous)-type viral - Réseau Sentinelles	43
Tableau 9 : Statut vaccinal - Distribution des virus grippaux détectés au CNR	43
Tableau 10 : Statut vaccinal - Distribution par tranche d'âge	44
Tableau 11 : Distribution par âge des patients – Région Antilles Guyane	59
Tableau 12 : Distribution par tranche d'âge et par type viral – Région Antilles Guyane	60

Résumé analytique

En France métropolitaine, la saison de surveillance 2015-2016 a été marquée par une épidémie grippale de forte intensité, tardive et longue avec un pic épidémique entre les semaines S10/2016 et S11/2016. Les détections de virus grippaux dans les prélèvements communautaires du réseau de médecins généralistes Sentinelles sont restées très sporadiques jusqu'à mi-janvier. Les détections de virus de grippe de type B lignage Victoria ont ensuite augmenté de façon importante à partir de la semaine S03/2016, entraînant une vague épidémique saisonnière majoritairement due aux virus grippaux de type B lignage Victoria avec une co-circulation de virus de sous-type A(H1N1)pdm09. Les virus grippaux de sous-type A(H3N2) n'ont quasiment pas circulé durant la période de surveillance. Environ 53% des 3959 prélèvements issus du réseau Sentinelles reçus aux laboratoires du CNR en métropole ont été trouvés positifs pour un virus grippal.

Pour la région Antilles Guyane, malgré des épidémies d'intensité faible à modérée, la saison de surveillance 2015-2016 a été marquée, par une sévérité plus importante qu'au cours des épidémies précédentes avec une proportion de cas hospitalisés en réanimation et une létalité plus élevées. Les cas sévères ont majoritairement été observés pour des infections liées à un virus A(H1N1)pdm09 chez des patients à risque et non vaccinés. Près de 62% de l'ensemble des prélèvements reçus au CNR-IPG ont été testés positifs pour un virus grippal avec une prédominance de virus A(H1N1)pdm09 sur l'ensemble des 3 DFA, même si une 2^{ème} vague épidémique tardive à virus A(H3N2) a été observée en septembre en Guyane.

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 2015-2016 repose sur l'activité des trois laboratoires composant le CNR de la semaine S40/2015 à la semaine S20/2016 avec les données de surveillance de l'ensemble de la période pour le CNR-IP et le CNR-HCL. Le rapport annuel 2015-2016 repose sur l'activité du CNR IPG de la semaine S40/2015 à la semaine S39/2016 avec les données de surveillance de l'ensemble de la période.

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 est donnée 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 le CNR-IPP, 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, conformément aux exigences des arrêtés du 30 juillet 2004, du 16 juillet 2007 et du 26 avril 2012 liés aux Micro-Organismes et Toxines (MOT).

Le Service Qualité, Environnement et Développement Durable (QEDD) apporte ses ressources et son expertise dans l'accompagnement du projet d'accréditation ISO 15189 des Laboratoires de Références et d'Expertise multi-sites LREMS (CNR et CIBU) conformément à l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative aux activités de biologie médicale, ratifiée par la loi 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la 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 2015-2016 :

- Mars 2015 : accréditation de la technique de détection de la grippe B avec détermination du lignage par qRT-PCR
- Avril 2015 : deux audits internes, technique et qualité ISO 15189
- Octobre 2015 : renouvellement de l'accréditation suite à l'audit du LREMS de juin 2015 (notre CNR n'a pas été audité)
- Septembre 2016 : deux audits internes, technique et qualité ISO 15189

○ Perspectives 2017 :

Audit de renouvellement et de suivi ISO 15189 et dépôt du dossier validation de méthode de détection des virus grippaux de type A avec détermination des sous-types A(H1N1)pdm09 et A(H3N2)

Conformément à l'article L 5139-1 du code de Santé Publique et à l'arrêté, en date du 6 novembre 2014 modifiant l'arrêté du 30 avril 2012, fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT), le CNR-IPP a déposé des dossiers techniques auprès de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) pour le renouvellement des autorisations de détention et de mise en œuvre concernant les Orthomyxovirus de type A, sous-type H5N1, H7N7 et H7N3 et pour le coronavirus du SRAS dans les nouveaux locaux du CNR ainsi qu'un dossier technique relatif au MERS-CoV qui a été rajouté à la liste des micro-organismes et toxines par l'arrêté du 6 novembre 2014. Ces dossiers sont en cours d'instruction par l'ANSM. Toutefois, le CNR-IPP est en capacité de réaliser la détection des cas possibles de grippe aviaire et de MERS-CoV (suite aux dispositions spécifiques validées par l'ANSM pour le diagnostic du MERS-CoV).

➤ **CNR-HCL**

Le CNR est associé à la démarche qualité du laboratoire de Virologie qui réunit depuis novembre 2015 les laboratoires du Groupements hospitaliers EST et NORD, au sein de l'Institut des Agents Infectieux à l'Hôpital de la Croix Rousse (GHN). L'équipe du CNR travaille donc à la mise en place d'un système uniformisé entre 3 disciplines Bactériologie Virologie Parasitologie avec des équipes qui arrivent progressivement au GHN. Cette démarche est aussi celle de l'ensemble des laboratoires des Hospices Civils de Lyon qui constituent le LBMMS ou Laboratoire de Biologie Médicale Multi Sites. En tant qu'établissements de santé public, le LBMMS, soumis à l'obligation de certification mise en œuvre par la Haute Autorité de Santé (HAS) est certifié par l'HAS depuis avril 2008 (Certification V2, 2ème procédure, V2007).

En 2006, une équipe QUALITE avait été mise en place au sein du laboratoire pour assurer l'application du GBEA (Guide de Bonnes Exécution des Analyses). Cette équipe a évolué et depuis 2010, le CNR travaille à la mise en place et à l'amélioration de la démarche qualité selon la norme NF EN ISO 15189. La gestion du Système Qualité est sous la responsabilité de Mr le Professeur Lina, *Chef de service*, de Maude Bouscambert, *Responsable Qualité De Discipline* et Martine Valette, *Responsable du CNR*. Au sein de l'équipe qualité du CNR, sont impliqués un correspondant *Qualité* (G Burfin) et *Métrologie* (R Fanget) et un correspondant *Hygiène et Sécurité* (C Socratous).

Notre système d'assurance qualité repose sur une gestion documentaire organisée avec le logiciel KALILAB et commune avec le laboratoire de Virologie.

Sous la responsabilité de la cellule qualité, l'équipe du CNR a mis en place une gestion documentaire complète, la formation et l'habilitation du personnel, le suivi des non-conformités et leur gestion, la validation de méthode et la mise en place de contrôles de qualité interne. Le laboratoire continue à participer à de nombreux contrôles de qualité externe (eCDC, OMS). Le laboratoire et le CNR qui travaillent ensemble sur ces questions de qualité ont été inspectés ou audités à plusieurs reprises ces dernières années :

1/ inspections ANSM (13-15 mai 2008, 2-4 juin 2014 et 4-5 novembre puis 7-8 décembre 2015)

2/ audits qualité organisés par les sociétés producteurs de vaccins dont nous sommes sous-traitants (en 2007, 2010, 2012 et 2014)

3/ audits internes (4 et 20 avril 2016)

Les objectifs du CNR sont ceux du LBMMS à savoir, une demande d'accréditation partielle au plus tard le 30 avril 2017 pour les analyses de détection duplex des virus influenza A et B et de sous-typage H3 et N1 par RT-PCR en temps réel puis une demande d'extension de la portée d'accréditation sur les sous-typages H5 et H7 par RT-PCR en temps réel en avril 2018. La RT-PCR de détection des virus influenza A est la technique proposée en 2009 aux laboratoires hospitaliers français pour la réalisation du diagnostic des infections grippales lors de la pandémie A(H1N1)pdm09 (M.Bouscambert Duchamp *et al.*, 2010). Cette PCR est un outil évalué régulièrement par les différents contrôles de qualité externes.

Le laboratoire de Virologie sera audité par le COFRAC du 12 au 16 décembre 2016 pour des analyses de biologie moléculaire (charges virales plasmatiques VIH VHC et VHB).

➤ **CNR-IPG**

Le laboratoire de virologie qui héberge le CNR-IPG, est accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du COFRAC sous le numéro 8-3373 depuis Nov. 2014 pour la version 2007 et depuis Nov. 2015 pour la version 2012 de cette norme (sous-famille concernée : sérologie infectieuse). Le maintien de cette accréditation a été obtenu en août 2016 suite à la visite de suivi S2. Une demande d'extension du périmètre d'accréditation aux techniques de détection moléculaire est envisagée pour 2017.

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.

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. Comme la saison précédente, les virus de sous-type A(H3), bien que peu nombreux, se cultivent difficilement sur cellules MDCK et hémagglutinent faiblement les globules rouges de cobaye. Nous utilisons occasionnellement la RT-PCR et les tests ELISA pour détecter la présence de virus dans les cultures. La caractérisation antigénique de ces virus peut être réalisée par inhibition d'hémagglutination en présence d'un inhibiteur de l'activité neuraminidase, l'oseltamivir.

2.1.1 Evaluation des Tests Rapides d'Orientation Diagnostic TROD

Suite à l'évaluation qui avait été réalisée en 2014 des performances (analytiques et de praticabilité) des tests d'orientation diagnostic de la grippe le CNR-HCL a été contacté par des industriels afin de réaliser l'expertise de nouveaux tests. Afin de comparer les résultats à ceux obtenus précédemment, les tests ont été réalisés dans les mêmes conditions en utilisant la même grille de praticabilité et les mêmes souches de référence A/California/7/2009(H1N1pdm09), A/Texas/50/2012(H3N2), B/Brisbane/60/2008 (B Victoria) et B/Massachusetts/2/2012 (B Yamagata).

Le CNR-HCL a évalué le test rapide moléculaire AlereTM i Influenza A & B et le test FDC Immuno AG1 (Fujifilm, Silver Amplified Lateral-Flow).

En complément, le CNR-HCL a réalisé des études rétrospectives pour ces 2 dispositifs sur des échantillons de patients.

2.1.2 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Les techniques du CNR 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/en/).

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 se traduire par 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 laboratoires du 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 2015-2016

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 5433 prélèvements et détecté 3211 virus grippaux.

➤ CNR-IPP et CNR-HCL

En France métropolitaine, au sein des 4985 prélèvements reçus par les CNR-IPP et -HCL, 2937 (58,9%) prélèvements ont été rendus positifs pour un ou plusieurs virus grippaux (22 co-infections). Ces détections positives proviennent essentiellement de la surveillance du réseau Sentinelles (n= 2118 ; 72,1%) et des laboratoires hospitaliers (n= 770 ; 26,2%) dont une partie provient des laboratoires des armées (n=10) et d'autres hôpitaux (n=31) de l'étranger (n=48 ; 1,6%), et des EHPAD (n=1 ; <1%).

Les virus grippaux détectés se répartissent de la manière suivante : 975 (32,9%) virus H1N1pdm09, 97 (3,3%) virus H3N2, et 41 (1,4%) virus de type A non sous-typés, et 31 (1,0%) virus B-Yamagata, 1793 (60,5%) virus B-Victoria et 28 (0,9%) virus de type B pour lesquels le lignage n'a pas été déterminé (Tableau 1).

➤ CNR-IPG

En région Antilles-Guyane, le CNR-IPG a reçu 448 prélèvements en provenance respectivement de Guyane (n= 160 ; 35.7%), de Martinique (n= 208 ; 46.4%) et de Guadeloupe, (n= 80 ; 17.9%). Ces prélèvements proviennent respectivement des réseaux sentinelles (n= 175 ; 39.1%), de laboratoires hospitaliers (n=212 ; 47.3%) et de laboratoires privés ou de centres de santé périphériques (n=61 ; 13.6%).

Au total, 274 virus grippaux ont été détectés, répartis de la façon suivante : 209 (76.3%) virus grippaux de type A parmi lesquels 187 (89.5%) virus H1N1pdm09 et 22 (10.5%) virus H3N2 et 65 (23.7%) virus de type B parmi lesquels 52 (80%) B appartenant au lignage B-Victoria et 13 (20%) virus B appartenant au lignage B-Yamagata.

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 Vic		B Yam	
					PCR	isolt	PCR	isolt			PCR	Isolt	PCR	isolt
2727	1591	Total Sent./Hôpitaux (FN)	580	24	530	231	29	11	1028	0	1009	275	19	7
2140	1297	Total Sent./Hôpitaux (FS)	485	3	420	241	62	28	818	28	778	480	12	8
2265	1206	Sentinelles (FN)	354	12	332	163	10	6	869	0	861	214	8	5
1638	858	Sentinelles (FS)	241	2	223	156	16	13	621	15	599	427	7	7
56	54	Corse	26	0	26	10	0	0	29	1	28	4	0	0
462	385	Lab. Hospitaliers (FN)	226	12	198	68	19	5	159	0	148	61	11	2
446	385	Lab. Hospitaliers (FS)	218	1	171	75	46	15	168	12	151	49	5	1
Alsace														
1	1	CH Strasbourg	1	0	0	0	1	0	0					
4	2	CH Mulhouse	0						2	0	0		2	0
Basse Normandie														
9	7	CH Caen	4	0	4	3	0	0	3	0	3	2	0	0
1	1	CH St Lô	0						1	0	1	0	0	0
Bourgogne														
62	58	CH Dijon	28	2	22	9	4	1	30	0	30	14	0	0
3	3	CH Sens	0						3	0	3	0	0	0
Bretagne														
35	27	CHRU Brest	9	1	8	4	0	0	18	0	18	13	0	0
29	24	CHU Rennes	18	0	15	4	3	3	6	0	6	4	0	0
1	1	CH Lorient	1	0	1	1	0	0	0					
Centre														
2	2	CH Orléans	2	0	2	2	0	0	0					
Franche Comte														
6	0	CHRU Jean Minjoz	0						0					
Haute Normandie														
6	3	CH Rouen	2	0	2	1	0	0	2	0	2	0	0	0
1	1	CH Elboeuf	1	0	1	1	0	0	0					
Ile de France														
1	0	CH Bichat	0	0	0	0	0	0	0					
4	4	CH Cochin	4	0	2	0	2	0	0					
39	37	CH Pitié Salp.	31	2	29	10	3	0	4	0	4	2	0	0
3	2	Hop Necker	2	0	2	0	0	0	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 Vic		B Yam	
					PCR	isolt	PCR	isolt			PCR	Isolt	PCR	isolt
133	118	CH Trousseau	64	3	58	17	3	1	54	0	48	17	6	0
6	5	GH St Joseph	4	0	4	0	0	0	1	0	1	1	0	0
2	0	Hop Tenon	0						0					
3	3	Hop St Louis	2	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1
1	0	Polyclin Aubervilliers	0						0					
24	23	CH Ambroise Paré	15	0	15	6	0	0	8	0	6	2	2	1
5	5	CH Versailles	3	0	3	1	0	0	2	0	2	0	0	0
3	3	Hôpital Foch	3	1	2	1	0	0	0					
8	7	CH Louis Mourier	5	1	4	0	0	0	2	0	2	0	0	0
2	2	CHU Bicêtre	2	0	2	0	0	0	0					
2	1	CH Paul Brousse	0						1	0	1	1	0	0
1	1	Hop A. Bécclère	1	0	1	1	0	0	0					
1	0	CH Fontainebleau	0						0					
1	0	Hop Américain	0						0					
Lorraine														
29	26	CHU Nancy	13	2	11	3	0	0	14	0	14	5	0	0
Nord Pas de Calais														
5	4	CH Lille	3	0	3	1	0	0	1	0	1	0	0	0
1	1	CH Calais	0						1	0	1	0	0	0
3	3	CH Dunkerque	0						3	0	3	0	0	0
Pays de Loire														
2	1	CH Nantes	1	0	0	0	1	0	0					
3	1	CH Angers	0						1	0	1	0	0	
Picardie														
5	3	CH Amiens	3	0	3	1	0	0	0					
Aquitaine														
2	0	Agen	0						0					
5	5	Bayonne	1	0	0	0	1	0	4	0	4	0	0	0
96	90	Bordeaux	34	0	34	8	0	0	56	7	47	0	2	0
Auvergne														
10	1	Aurillac	1	0	1	1	0	0	0					
34	34	Clermont-Ferrand*	24	0	23	15	1	0	10	0	10	8	0	0

			Virus type A						Virus type B					
Nbre de plvts / souches	Plvts positifs (A ou B)	Provenance Surveillance Population	TOTAL A	non sous typés	H1N1 pdm09		H3N2		TOTAL B	Non sous typés	B Vic		B Yam	
					PCR	isolt	PCR	isolt			PCR	Isolt	PCR	isolt
Languedoc-Roussillon														
2	2	Béziers	0						2	0	2	0	0	0
6	6	Montpellier	6	0	6	2	0	0	0					
Midi-Pyrénées														
46	40	Toulouse	27	0	26	16	1	0	13	4	9	6	0	0
PACA														
5	3	Avignon	1	0	1	1	0	0	2	0	2	1	0	0
2	2	Jouques	2	0	0	0	2	1	0					
9	9	Marseille	4	0	0	0	4	3	6	0	5	4	1	0
2	2	Monaco	2	0	2	1	0	0	0					
1	1	Nice	1	0	1	0	0	0	0					
11	11	Toulon	11	0	11	4	0	0	0					
Poitou-Charentes														
39	34	Poitiers	14	0	12	12	2	2	20	0	19	19	1	1
Rhône-Alpes														
2	0	Bourg-en-Bresse	0						0					
2	2	Bourgoin	2	0	1	0	1	1	0					
3	0	Condrieu	0						0					
1	0	GH Alpes Léman	0						0					
21	21	Grenoble	11	0	11	4	0	0	10	0	10	3	0	0
1	0	La Pacaudière	0						0					
3	1	Lyon	0						1	0	1	1	0	0
3	0	St Alban-les-Eaux	0						0					
58	52	St Etienne	39	0	20	6	19	13	13	1	12	4	0	0
3	0	St Galmier	0						0					
3	3	Valence	0						3	0	3	1	0	0
Armées														
2	2	HIA Percy	2	0	2	1	0	0	0					
8	8	HIA Lyon	4	0	3	1	1	1	4	0	4	2	0	0
20	1	EHPAD (FN)	0						1	0	1	0	0	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 PCR	isolt	H3N2 PCR	isolt	TOTAL B	Non sous typés	B Vic PCR	Isolt	B Yam PCR	isolt
13	3	Autres : RIIP (FN)	2	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
IDF et autres (FS)														
31	28	Paris GH St Joseph	8	0	8	0	0	0	20	0	20	0	0	0
2	0	Orléans	0						0					
Total étranger														
82	35	Antilles / Guyane (FN)	34	14	20	7	0	0	2	0	2	0	0	0
16	13	Papeete (FN)	11	0	5	0	6	3	3	0	3	0	0	0
35	30	La Réunion (FS)	26	1	11	4	14	0	4	0	3	0	1	0
2845	1640	TOTAL général (FN)	625	38	555	238	35	14	1034	0	1015	275	19	7
2140	1297	TOTAL général (FS)	485	3	420	241	62	28	818	28	778	480	12	8
4985	2937	TOTAL GÉNÉRAL	1110	41	975	479	97	42	1852	28	1793	755	31	15

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

➤ **CNR-IPP : détection de 17 cas d'infections mixtes :**

Virus grippaux A + B :

- 1x A(H3N2) + B Victoria
- 15x A(H1N1)pdm09 + B Victoria

Virus Grippaux A

- 1x A(H1N1)pdm09 + A(H3N2)

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

Virus grippaux A + B :

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

Nbre de plvts / souches	Plvts positifs (A ou B)	Provenance Surveillance Population	TOTAL A	Virus type A			TOTAL B	Virus type B		
				non sous typés	H1N1 pdm09	H3N2		non sous typés	B Victoria Total Vic	B Yamagata Total Yam
160	51	Guyane	40	0	24	16	11	0	11	0
62	24	Hôpital / Centre de Santé	22		11	11	2		2	
42	14	Hôp. Cayenne	12		7	5	2		2	
5	5	CDS Grand-Santi	5		0	5	0		0	
10	3	CDS Iracoubo	3		3	0	0		0	
1	1	CDS Maripasoula	1		0	1	0		0	
3	1	CDS Saint Georges	1		1	0	0		0	
1	0	CDS Trois Sauts	0		0	0	0		0	
41	12	Laboratoires privés	11		10	1	1		1	
57	15	Surveillance sentinelle	7		3	4	8		8	
208	180	Martinique	135	0	132	3	45	0	40	5
167	165	CHU Fort de France	126		123	3	39		35	4
41	15	Surveillance sentinelle	9		9	0	6		5	1
80	43	Guadeloupe	34	0	31	3	9	0	1	8
3	3	CHU Pointe à Pitre	3		3	0	0		0	0
77	40	Surveillance sentinelle	31		28	3	9		1	8
175	70	Total sentinelle	47	0	40	7	23	0	14	9
273	204	Total Non Sentinelle	162	0	147	15	42	0	38	4
448	274	Total Général	209	0	187	22	65	0	52	13

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

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

Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV)

➤ CNR-IPP et CNR-HCL

Un total de 98 prélèvements ont été reçus pour suspicion d'infection par le nouveau coronavirus MERS-CoV provenant de 53 patients à leur retour du Moyen-Orient. Leur répartition selon le pays de provenance est la suivante, la majorité (85%) provenant d'Arabie Saoudite (voyage à la Mecque notamment) :

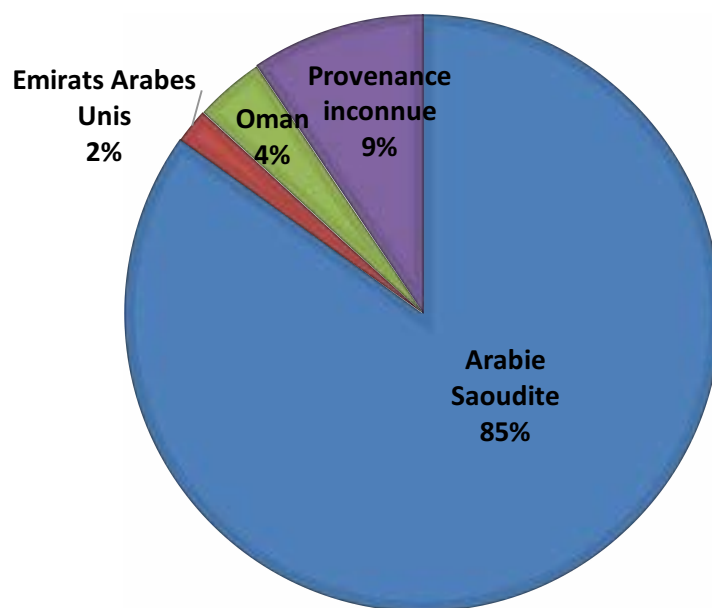


Figure 1 : Suspicion MERS-CoV - Répartition de la provenance

Pour 32 patients (60,4%) d'autres étiologies ont été détectées, parmi lesquelles majoritairement du rhinovirus (72%), des virus de grippe A(H1N1)pdm09 (6%) et une co-infection (grippe A(H3N2) et rhinovirus).

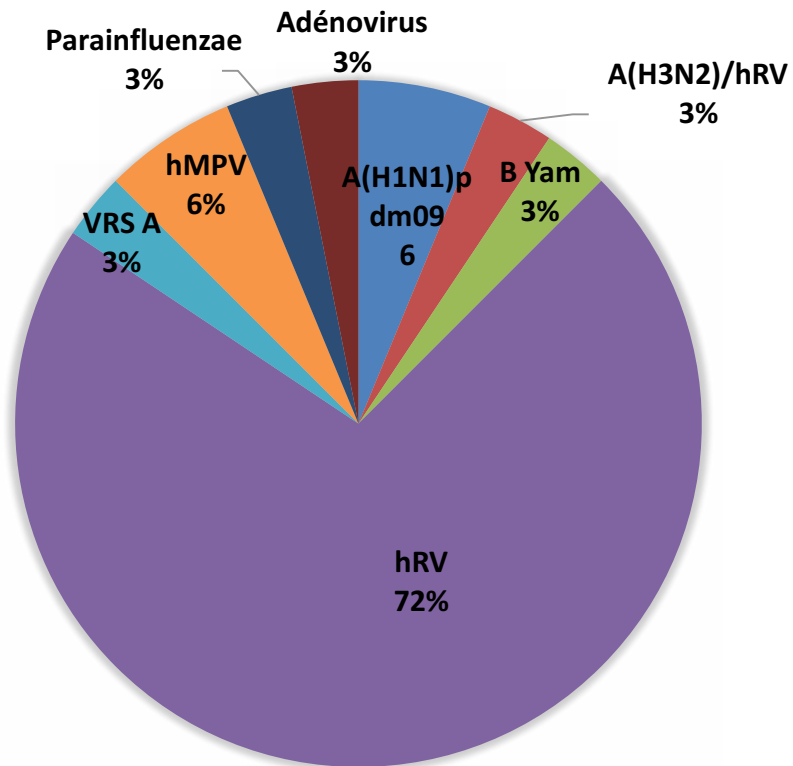


Figure 2 : Suspicion MERS-CoV - Autres étiologies

➤ **CNR IPG**

Aucune suspicion MERS-CoV n'a été reçue au CNR-IPG

Virus de grippe aviaire A(H7N9)

Aucune suspicion A(H7N9) n'a été reçue au CNR-IPP, ni au CNR-HCL ni au CNR-IPG cette saison.

Virus de grippe aviaire H5N1x HP

Un échantillon : en décembre 2015, en Dordogne classement comme cas possible d'un sujet en contact avec des canards infectés (H5 HP) – [Recherches négatives](#).

2.2.1.3 Collection de souches de virus influenza aviaire

Aucune souche de virus influenza aviaire n'a été reçue par le CNR cette saison.

2.2.1.4 Collection de prélèvements provenant d'études ou de firmes

➤ **CNR-IPP**

- Étude en collaboration avec le CEA (Dr Roger Legrand) pour la mise en place d'un modèle d'infection par les virus influenza chez le macaque. De novembre 2015 à août 2016 ont été reçus : 574 échantillons respiratoires dont 287 prélèvements nasaux, 74 prélèvements pharyngés et 213 prélèvements trachéaux et 165 prélèvements sanguins (sérum).
- Étude CONSISE : comparaison de notre technique d'inhibition d'hémagglutination avec la technique de l'OMS, réalisée sur 10 sérums.
- Étude avec Henri Mondor : sérologie IHA réalisées sur des sérums de 10 patients vaccinés, à différents temps par rapport à la vaccination.
- Étude FIBEBIOTICS: réalisation de séroneutralisation sur une sélection des sérums reçus en 2013
- VIRBAC : sérologie IHA sur 35 sérums de furets.

➤ **CNR-HCL**

• **Protocole**

- **FLUVAC 2016** : 461 patients (5 centres: Bichat, Cochin, Lyon, Montpellier, Rennes)
Sous-typage Virus A (9 échantillons positifs Centre de Lyon) ,
Lignage B pour tous les Centres (74 échantillons).
- **ETUIT**: titrage de sérums (pré et post vaccination grippale) pour des patients greffés de rein (HEH, Lyon) par IHA. L'étude a porté sur 61 sujets.
- **Titrage** Ac pre et post vaccination grippe par la technique d'IHA pour 39 patients à la demande d'un laboratoire de Clermont Ferrand.

• **Producteurs de Vaccins :**

- **GSK : 13 échantillons**
A : 1 (*H1N1*)pdm09 (A/Christchurch/16/2010)
4 H3N2 (A/HK/4801/14 NYMC X-263B x2, A/South Australia/9/2015, A/Brisbane/47/2015)
B : 2 *Lignage Yamagata* (B/California/12/2015 – B/Phuket/3073/2013)
6 *Lignage Victoria* (B/Brisbane/60/2008, B/Indiana/25/2015)

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

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(H3N2)		
A/Switzerland/9715293/2013		2015-16
A/Hong Kong/4801/2014	2015-16	2015-16
A/Hong Kong/146/2013		2015-16
A/Brisbane/10/2007		2015-16
A/Stockholm/6/2014	2015-16	2015-16
A/Texas/50/2012		2015-16
A/Perth/16/2009		2015-16
A(H1N1)pdm09		
A/California/07/2009		2015-16

A/Christchurch/16/2010		2015-16
A/St Petersburg/27/2011		2015-16
A/St Petersburg/100/2011		2015-16
A/Hong Kong/5659/2012		2015-16
B-Yamagata		
B/Phuket/3073/2013		2015-16
B/Massachusetts/02/2012	2015-16	2015-16
B/Estonia/55669/2011		2015-16
B/Wisconsin/1/2010		2015-16
B-Victoria		
B/Johannesburg/3964/2012	2015-16	2015-16
B/South Australia/81/2012	2015-16	2015-16
B/Hong Kong/514/2009		2015-16
B/Brisbane/60/2008		2015-16

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

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 ne sont pas ciblés par les adamantanes et sont 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, ou sur la détection par RT-PCR en temps réel de la présence ou l'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 permet ainsi d'apprécier par une méthode phénotypique les variations de sensibilité d'un virus grippal aux INA.

La surveillance et le dépistage de virus influenza potentiellement résistants aux inhibiteurs de la neuraminidase (INA) est réalisé pour une sélection de prélèvements recueillis chez des patients en communauté ou hospitalisés selon la stratégie suivante.

Surveillance globale :

Un échantillonnage des virus grippaux isolés dans le cadre de la surveillance de la population générale, dans les armées ou de patients hospitalisés a été sélectionné en fonction du contexte de la surveillance, Sentinelles ou hôpital, de la situation géographique et en fonction de la caractérisation antigénique des souches.

Surveillance rapprochée des cas d'excrétion grippale prolongée :

Pour les patients hospitalisés, sont sélectionnés les prélèvements de patients présentant une excrétion virale prolongée (> 5 jours) ; les isolats correspondants lorsqu'ils sont obtenus sont testés en test fluorimétrique. Pour les isolats présentant une sensibilité diminuée aux INA le séquençage de la NA est réalisé. Pour les virus A(H1N1)pdm09 une RT-PCR temps réel différentielle (utilisant des sondes Taqman spécifiques) permet de détecter la mutation de résistance à l'oseltamivir H275Y dans la NA. Cette technique de RT-PCR est utilisée soit sur les isolats soit directement sur les prélèvements ce qui permet d'avoir une information même pour les prélèvements n'ayant pas permis l'isolement viral.

Surveillance des cas graves hospitalisés en réanimation :

Pour les cas graves hospitalisés en réanimation le séquençage des gènes de la HA et de la NA au minimum est réalisé ainsi qu'un test fluorimétrique de sensibilité aux INA sur les virus isolés pour ces patients.

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=123 CNR-IPP) et A(H3N2) (n=14 CNR-IPP) présentaient une asparagine en position 31 de la séquence de la protéine M2 associé à une résistance à l'amantadine/rimantadine et 4 virus, une Alanine en position 27 de la séquence de la protéine M2 associé 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 séquençage du gène NA ou encore au moyen de RT-PCR temps réel différentielle avec des sondes spécifiques. Au total, 178 isolats et/ou prélèvements, ont été analysés, 49 provenaient de cas graves (généralement hospitalisés en réanimation).

Par séquençage du gène NA, un virus A(H1N1)pdm09 présentant une mutation H275Y sur la neuraminidase associée à la résistance à l'oseltamivir a été identifié. Un autre virus A(H1N1)pdm09 présentant cette mutation (double population 275HY) a été identifié par RT-PCR temps réel différentielle dans le cadre de prélèvements séquentiels d'un patient traité par Tamiflu qui continuait à excréter du virus.

➤ 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 14 prélèvements testés, aucune mutation n'a été détectée.

➤ 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. Au total 176 isolats et/ou prélèvements, ont été analysés, 38 provenaient de cas graves. Par séquençage du gène NA, un virus B Victoria présentant une mutation D197N sur la neuraminidase associée à une possible réduction de la sensibilité à l'oseltamivir et au zanamivir a été identifié. Cette réduction de la sensibilité a été confirmée par test phénotypique.

2.2.2.2 Test fluorimétrique (phénotypique)

Ce test réalisé en présence de différentes concentrations d'antiviraux permet la mesure de l'IC₅₀ (en nM) qui correspond à la concentration d'antiviral capable d'inhiber 50% de l'activité neuraminidase.

Parmi les virus A(H1N1)pdm09, A(H3N2) et de type B (lignages B-Yamagata et B-Victoria) dont la sensibilité aux INA a été testée (n = 139), seuls deux ont présenté une réduction de sensibilité à l'oseltamivir (Tableau 4).

	Sentinelles/Hôpital		Autres	
	Sen	Res	Sen	Res
IPP				
A(H1N1)pdm09	25	1	1	0
A(H3N2)	2	0	0	0
B	28	1	0	0
tot	55	2	1	0
HCL				
A(H1N1)pdm09	31	0		
A(H3N2)	31	0		
B	22	0		
tot	84	0	0	0
TOTAL	139	2	1	0

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

Il s'agissait de :

- Un virus A(H1N1)pdm09 isolé d'une patiente de 73 ans atteinte de myélome, qui a présenté une infection grippale avec excrétion persistante de virus malgré un traitement par Tamiflu. L'analyse phénotypique du virus A/Dijon/699/2016 a révélé une sensibilité très diminuée à l'oseltamivir (IC_{50} oseltamivir = 296,20 nM) en cohérence avec la détection dans la NA de la substitution H275Y (détectée par séquençage)
- Un virus B Victoria isolé d'une enfant de 15 ans pour laquelle nous n'avons pas d'information. L'analyse phénotypique a révélé une sensibilité légèrement diminuée à l'oseltamivir (IC_{50} oseltamivir = 4,53 nM).

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 de 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 les réunions OMS de détermination de la nouvelle composition vaccinale en février et septembre.

Le CNR-IPP a effectué un envoi au CCOMS de Londres en janvier 2016, en début d'épidémie, de 15 prélèvements positifs pour un virus influenza (6 virus A(H1N1)pdm09, un virus A(H3N2) et 9 virus de grippe B de lignage Victoria). Un autre envoi a été effectué en septembre 2016 de 21 prélèvements positifs pour un virus influenza (11 virus A(H1N1)pdm09, un virus A(H3N2) et 9 virus B de lignage Victoria).

Le CNR-HCL a effectué deux envois de virus grippaux au CCOMS de Londres le premier au début de la période de circulation en janvier 2016, de 15 isolats en provenance de la surveillance communautaire et hospitalière, (2 virus A(H3N2), 4 virus A(H1N1)pdm09 et 9 virus de type B lignage Victoria). Puis un nouvel envoi a été effectué en août 2016 de 15 isolats (6 virus A(H3N2), 3 virus A(H1N1)pdm09, 5 virus de type B lignage Victoria et 1 virus de type B lignage Yamagata). Il s'agissait de virus isolés de la surveillance communautaire et hospitalière, pendant la période épidémique en métropole mais aussi de virus en provenance de La Réunion isolés en mai et juillet 2016 et de cas d'importation chez patients de retour d'Arabie Saoudite.

Le CNR-IPG a effectué 2 envois au CNR-IPP, un premier en février 2016 de 11 prélèvements positifs A(H1N1)pdm09 provenant majoritairement (n=8) de cas sévères hospitalisés en réanimation en Martinique et un second en octobre 2016 de 10 A(H3N2). Un envoi au CCOMS d'Atlanta (CDC) a également été effectué en août 2016 de 21 prélèvements positifs pour un virus influenza (10 A(H1N1)pdm09, 3 A(H3N2) et 8 virus B de lignage Victoria).

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).

Le CNR-HCL a envoyé des cellules MDCK à un laboratoire du réseau RENAL, un sérum de furet préparé vis-à-vis d'un virus grippal A/H1N1 à un laboratoire public en Bretagne.

3 Activités de surveillance

En **Métropole**, la saison de surveillance 2015-2016 a été marquée par une épidémie grippale de forte intensité avec un pic épidémique entre les semaines S10/2016 et S11/2016 et la circulation majoritaire de virus de grippe B lignage Victoria pendant toute la période de l'épidémie. Lors de cette saison les virus de sous-type A(H1N1)pdm09 ont co-circulé alors que les virus de grippe A(H3N2) sont restés sporadiques.

Dans les DFA (Départements Français des Amériques) la saison 2015-2016 a été marquée par des épidémies grippales d'intensité modérée et par une sévérité plus importante que les autres saisons, avec un nombre de cas graves hospitalisés en réanimation supérieur et une létalité plus importante.

En Guadeloupe l'épidémie a démarré en semaine 06/2016 pour se prolonger 13 semaines et en Martinique, l'épidémie a démarré en semaine 03/2016 pour se prolonger 18 semaines.

En Guyane, l'épidémie qui a démarré comme toujours plus tardivement, en semaine 09/2016, s'est prolongée 17 semaines, une 2^{ème} vague a été observée tardivement en septembre 2016.

Dans les 3 DFA, une co-circulation virale a été observée avec une prédominance des virus de type A, essentiellement virus de sous-type A(H1N1)pdm09 et virus de sous-type A(H3N2) durant la seconde vague en Guyane. Les virus de type B ont co-circulé, appartenant majoritairement au lignage B-Victoria à part en Guadeloupe (lignage B-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 Sentinelles, 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 interrégionales du réseau Sentinelles de la zone géographique correspondante.

➤ **Sentinelles**

Le réseau Sentinelles a recruté en début de période de surveillance des pédiatres pour participer à la surveillance clinique de la grippe et des autres virus respiratoires, afin d'obtenir une meilleure représentativité de la classe d'âge des moins de 15 ans.

Le réseau des médecins Sentinelles présents dans 22 régions se compose de 366 médecins : 267 médecins généralistes préleveurs et 99 pédiatres préleveurs. Parmi eux 314 (85,8%) ont réalisé au moins un prélèvement (tableau 5, figure 3).

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 9 régions Aquitaine, Auvergne, Languedoc-Roussillon, Limousin, Midi-Pyrénées, Poitou-Charentes, Provence-Alpes-Côte d'Azur, Rhône-Alpes et Corse.

➤ **Réseau Champagne-Ardenne**

Malgré l'arrêt du réseau national GROG de surveillance de la grippe, 14 médecins du réseau des GROG de la région Champagne Ardenne ont réalisé des prélèvements cette saison. Le CNR de la grippe a effectué les analyses virologiques pour la détection et le typage des virus Influenza et le laboratoire de Virologie de Reims (Pr Laurent ANDREOLETTI) a réalisé les

analyses bactério-virologiques des prélèvements pour la détection et le typage des virus et bactéries à tropisme respiratoire autres que les virus Influenza. Le rendu des résultats microbiologiques a été transmis aux médecins préleveurs par courrier et/ou courriel, et les données épidémio-microbiologiques ont été envoyées à la Cire pour une publication dans le point épidémiologique hebdomadaire.

La surveillance épidémiologique repose notamment sur le relevé hebdomadaire de l'activité médicale, et du nombre de syndromes grippaux.

La représentativité des médecins du réseau Sentinelles est décrite dans le tableau 5 (Source Réseau Sentinelles) et leur répartition géographique est représentée Figures 3 et 4.

	Médecins généralistes	Proportion de médecins préleveurs / généralistes	Pédiatres	Proportion de pédiatres préleveurs / pédiatres
Alsace	8	0,4	9	8,2
Aquitaine	8	0,2	3	2,3
Auvergne	8	0,6	5	16,1
Basse-Normandie	6	0,5	2	6,1
Bourgogne	6	0,4	1	2,7
Bretagne	13	0,4	4	3,8
Centre	17	0,8	2	2,6
Champagne-Ardenne	10	0,8	0	0
Corse	13	4,2	1	6,7
Franche-Comté	5	0,4	2	6,5
Haute-Normandie	3	0,2	4	7,5
Ile de France	22	0,2	16	2
Languedoc-Roussillon	8	0,3	4	3,2
Limousin	4	0,5	0	0
Lorraine	7	0,3	4	4,5
Midi-Pyrénées	12	0,4	6	4,4
Nord-Pas-de-Calais	16	0,4	3	2,8
Pays de la Loire	7	0,2	3	3,5
Picardie	3	0,2	1	1,9
Poitou-Charentes	4	0,2	5	13,9
PACA	7	0,1	4	1,5
Rhône-Alpes	32	0,5	16	5,4
FRANCE	219	0,5	95	4,8

Tableau 5 : Composition des médecins généralistes et des pédiatres du Réseau Sentinelles par région ayant réalisé au moins un prélèvement et proportion par rapport aux généralistes et pédiatres en exercice dans la région - France, saison 2015-2016. Source : Réseau Sentinelles

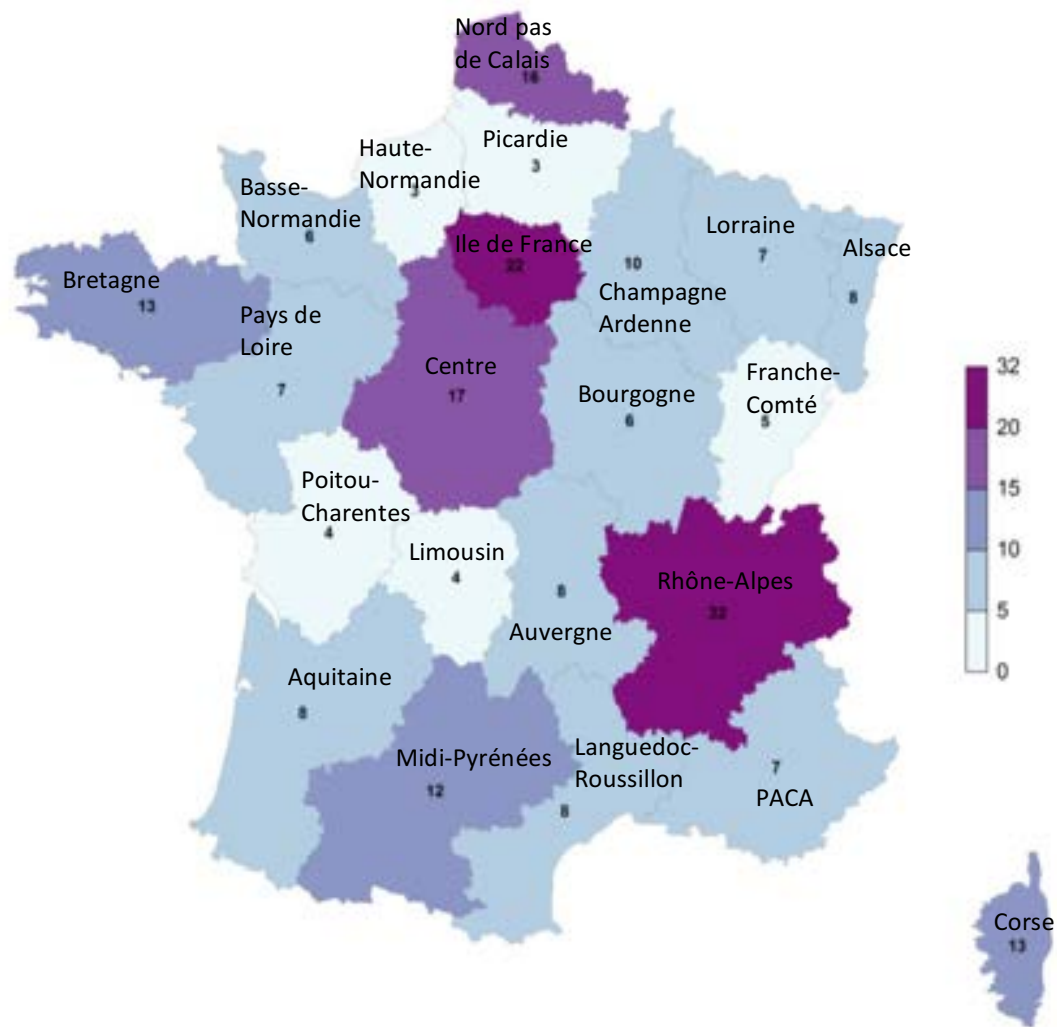


Figure 3 : Représentation géographique des médecins généralistes Sentinelles ayant participé à la surveillance virologique des syndromes grippaux saison 2015-2016, par région (Source réseau Sentinelles)

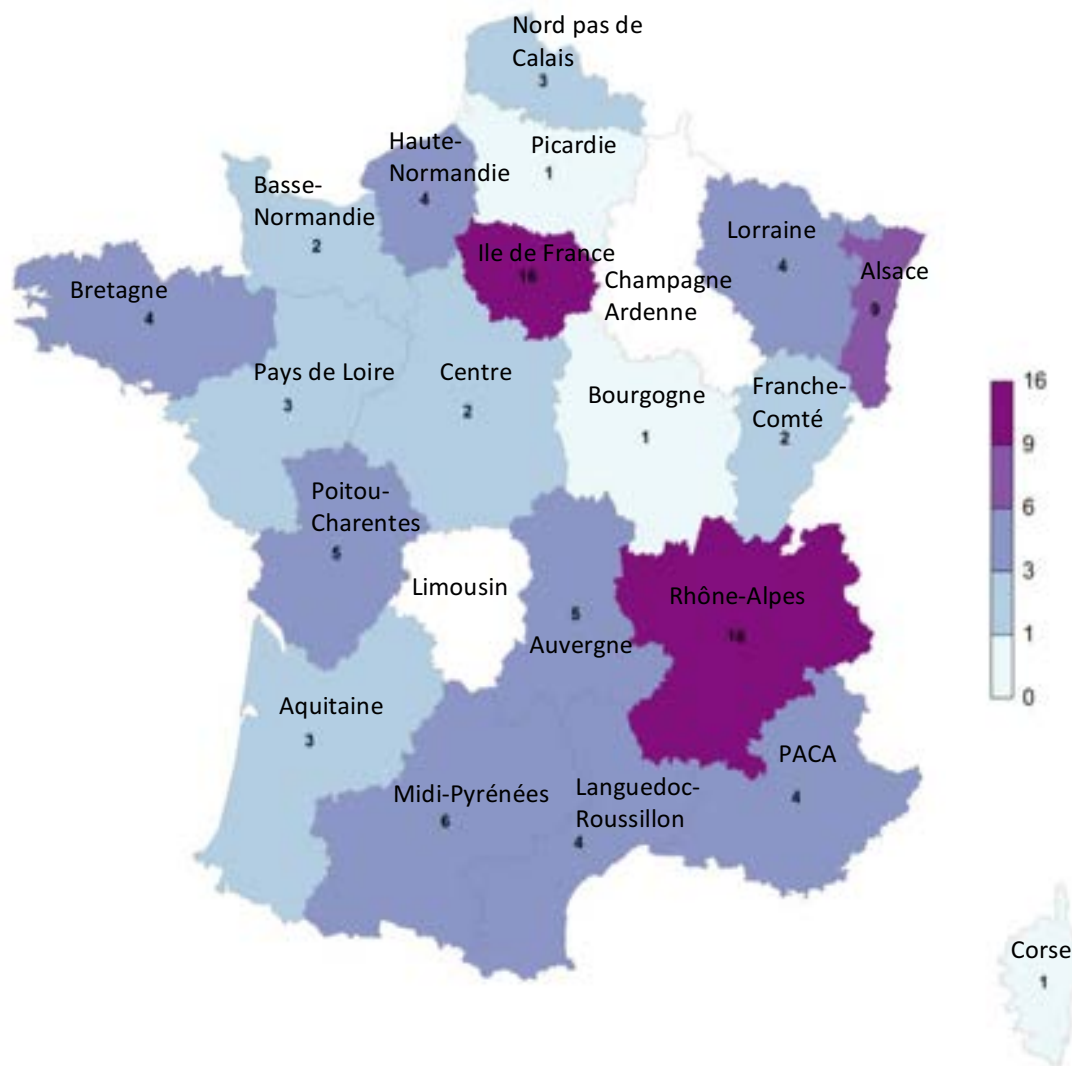


Figure 4 : Représentation géographique des pédiatres Sentinelles ayant participé à la surveillance virologique des syndromes grippaux saison 2015-2016, par région (Source réseau Sentinelles)

➤ **RENAL**

Ce Réseau National des laboratoires hospitaliers comporte :

- en **France-Nord**, 29 CHU ou CHR qui fonctionnent toute l'année :
 IDF (A. Paré, Avicennes, Bichat, Foch, HEGP, Necker, P. Brousse, H. Trousseau, C.H.U. Kremlin Bicêtre, H. St Louis, HIA Begin, H. Robert Debré, Cochin,, GH La Pitié Salpêtrière, Mignot), Rennes, Nantes, Strasbourg, Lille, Amiens, Reims, Dijon, Brest, Rouen, Tours, Nancy, Angers, Orléans et Caen.

- en **Fance-Sud**, 15 CHU ou CHR (Aix-en-Provence, Annecy, Bordeaux, Chambéry, Clermont-Ferrand, Grenoble, Limoges, Lyon, Marseille, Montpellier, Nice, Poitiers, St Etienne, Toulon, 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	X
Coronavirus	X	X
FQ	X	X

Tableau 6 : Liste des pathogènes

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

Les données du réseau RENAL sont intégrées dans la base de données **RENOG** qui permet via le web par accès sécurisé par identifiant et mot de passe :

- le recueil des résultats de détections de pathogènes respiratoires réalisées par les laboratoires hospitaliers (grippe, VRS, HMPV, rhino, etc....) du réseau RENAL
- l'agrégation des données de la surveillance communautaire (réseau GROG jusqu'en 2014) et du réseau RENAL

Depuis février 2008, les laboratoires hospitaliers de la moitié nord de la France peuvent déposer leurs résultats de détection d'infections respiratoires. Pour la saison 2015-2016, le système a été modifié et a permis d'accueillir l'ensemble des données des laboratoires hospitaliers français. Aujourd'hui, environ 45 laboratoires hospitaliers participent bénévolement au réseau RENAL. Ils possèdent tous un accès sécurisé à leur page de recueil et ont la possibilité de visualiser des tableaux récapitulatifs, des analyses au cours de la saison.

Des passerelles existent entre les bases de données grippe (FN & FS) et RENOG afin d'agréger les données Sentinelles et hospitalières, permettant ainsi de réaliser le fichier TESSy, envoyé chaque semaine à l'ECDC et à l'InVS/SPFrance.

Nous utilisons aussi ces données pour réaliser le **Bulletin National** qui est envoyé chaque semaine en période de surveillance aux laboratoires hospitaliers ainsi qu'aux collaborateurs étrangers via l'ECDC et aux agences de santé françaises.

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 de France Nord et France Sud (Figure 3).

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

Dans le cadre du réseau Sentinelles, durant l'ensemble de la période de surveillance virologique (semaine 40 à semaine 15), deux patients maximum pourront être prélevés par semaine par médecin participant. Il s'agira des 2 premiers patients de la semaine consultant pour un syndrome grippal selon la définition de cas du réseau Sentinelles utilisée pour la surveillance clinique des syndromes grippaux (cf ci-dessous), s'ils n'ont pas de lien entre eux (même famille par exemple), quel que soit leur âge, et présentant des symptômes depuis moins de 48 heures.

Ce protocole de prélèvement permet en prenant en compte la patientèle de chacun des médecins généralistes, 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

Le réseau Sentinelles est en charge de l'organisation de la surveillance clinique des cas de syndromes grippaux (SG) vus en consultation de soins en premiers recours (médecine générale et pédiatres) en France métropolitaine, couplée à une surveillance virologique. On peut ainsi détecter le début de l'épidémie grippale dans la communauté et suivre la dynamique de l'épidémie, estimer l'incidence nationale des cas de SG et de grippe vus en consultation de médecine générale et déterminer les caractéristiques cliniques des cas. La définition de cas utilisée est la suivante : **fièvre supérieure à 39°C, d'apparition brutale, accompagnée de myalgies et de signes respiratoires**. A partir de ce nombre de consultations pour syndromes grippaux, il est possible d'estimer la part attribuable aux virus de la grippe.

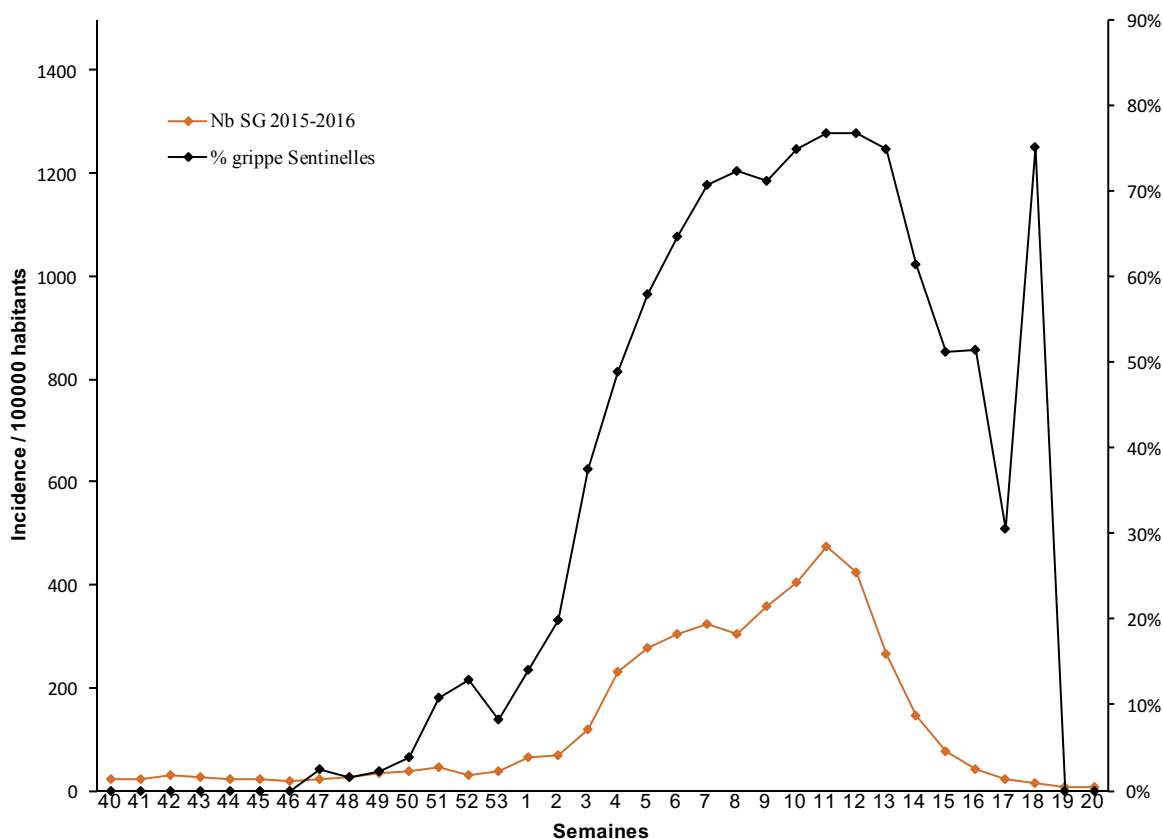


Figure 5 : Syndromes grippaux (GC) pour 100 000 habitants et pourcentage de virus grippaux détectés en médecine générale (Réseau Sentinelles) – période 40/2015-20/2016

La période épidémique pour la saison 2015-2016, définie par le franchissement du seuil épidémique du réseau Sentinelles, s'est étendue entre les semaines 04/2016 (25 au 31 janvier 2016) et 14/2016 (4 au 10 avril 2016), soit pendant 11 semaines. L'épidémie a été plus longue que la moyenne et tardive, seulement 4 épidémies ont été plus tardives depuis 1984.

Le pic d'activité a été observé en semaine 11/2016 (14 au 20 mars 2016) avec un taux d'incidence de 464 consultations pour syndromes grippaux pour 100 000 habitants (Figure 5).

Comparé aux données historiques de Sentinelles et rapporté à la population, concernant le nombre de cas cumulés, cette épidémie se classe en 21^{ème} position sur les 32 épidémies surveillées par le réseau Sentinelles depuis 1984.

Les taux d'incidence cumulée de consultations pour syndromes grippaux ont été les plus élevés dans les classes d'âge 0-4 ans et 5-14 ans et les taux les plus faibles chez les personnes de plus de 65 ans, comme classiquement retrouvé dans les épidémies antérieures (Figure 6).

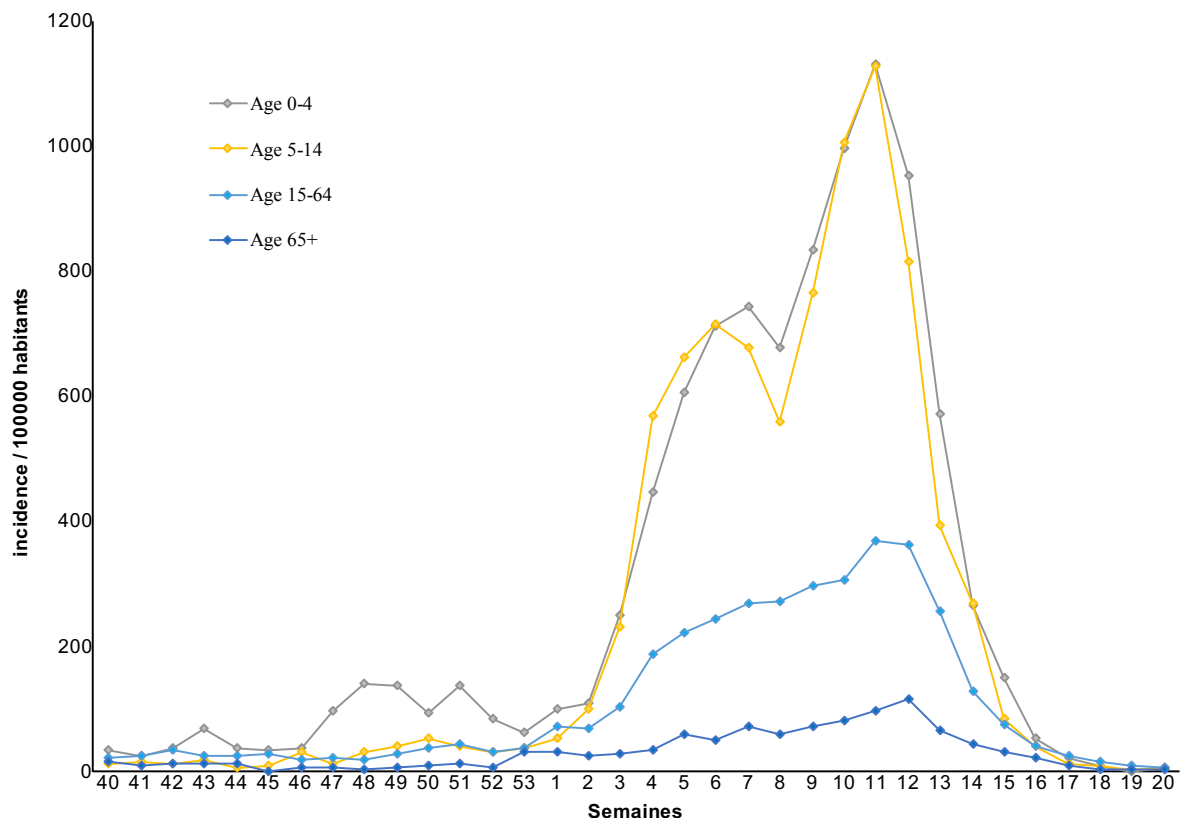


Figure 6 : Syndrome grippaux (GC) pour 100 000 habitants par tranches d'âge en France Médecine générale et pédiatres (réseau Sentinelles) – période 40/2015-20/2016

3.1.1.4 Surveillance virologique

➤ Chronologie et distribution géographique du nombre des isoléments/détections de virus grippaux et de VRS en France métropolitaine

Au plan virologique, la saison 2015-2016 présente, comme souvent, une dissociation de la circulation épidémique des VRS et des virus grippaux. Les VRS ont circulé de façon épidémique entre les semaines S44/2015 et S07/2016 alors que la circulation épidémique des virus grippaux a débuté en semaine S03/2016 pour se terminer semaine S16/2016. L'épidémie de VRS pour la France-Sud a débuté une semaine après la France-Nord. Cette année, en comparaison avec la saison 2014-2015, le nombre de virus grippaux détectés n'a pas été beaucoup plus important que le nombre de VRS détectés. L'épidémie grippale a débuté tardivement, aux alentours de la semaine S04/2016, encore plus tardivement que la saison précédente (S02/2015). (Figures 7 à 9).

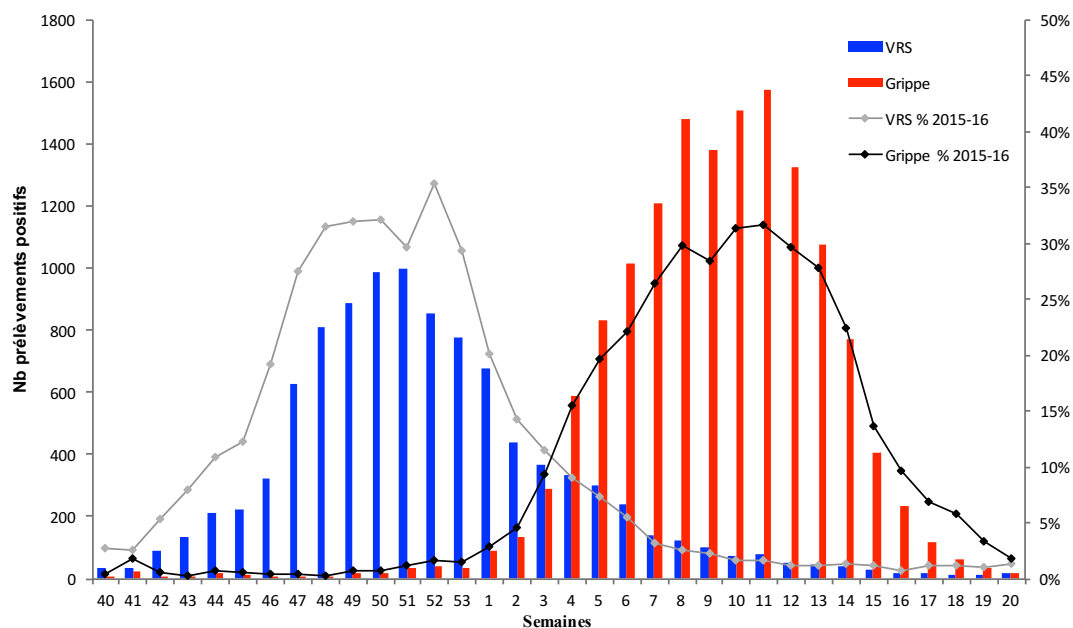


Figure 7 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

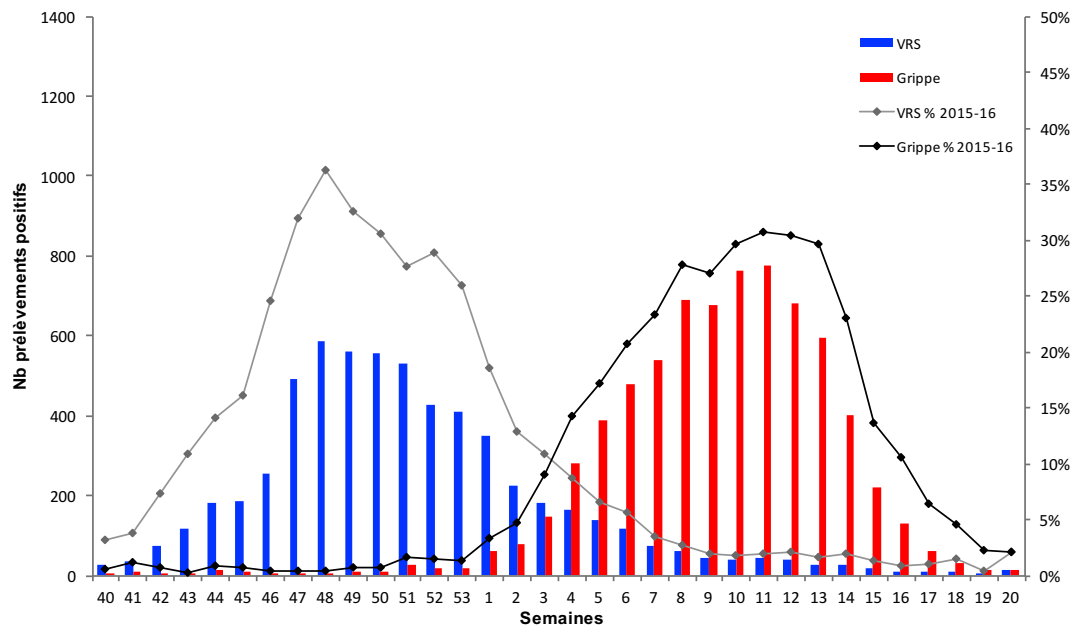


Figure 8 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Nord
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

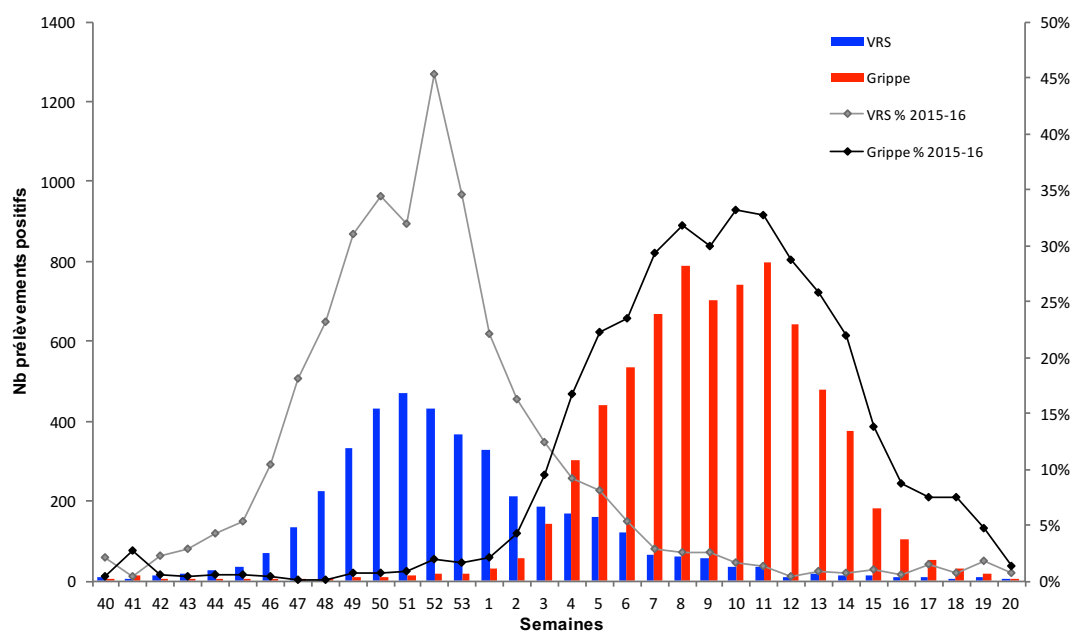


Figure 9 : Circulation du VRS et des virus grippaux en France-Sud
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

Au cours de la saison de surveillance 2015-2016, les détections de virus grippaux dans les prélèvements Sentinelles sont restées sporadiques jusqu'à mi-janvier et concernaient les virus grippaux de type B de lignage Victoria et de type A de sous type A(H1N1)pdm09. Les virus grippaux de type B de lignage Victoria ont ensuite augmenté de façon importante pour rester majoritaires jusqu'à la semaine S14/2016 entraînant une vague épidémique saisonnière majoritairement due aux virus grippaux B Victoria. Les virus grippaux de sous-type A(H1N1)pdm09 ont également circulé à un moindre niveau. Les détections de virus grippaux de sous-type A(H3N2) sont restées sporadiques tout au long de l'épidémie.

En médecine ambulatoire, le seuil épidémique virologique correspondant à plus de 10% de prélèvements positifs pendant deux semaines consécutives avec un minimum de 10 prélèvements a été franchi pendant 12 semaines, de mi-janvier (S03/2016) à avril (S14/2016), avec un pic mi-mars (S011/2016). Le taux de prélèvements positifs pour la grippe a dépassé les 10 % à partir de fin décembre, mais n'a augmenté de façon significative (>30 %) qu'à partir de mi-janvier 2016. Au pic épidémique, plus d'un prélèvement du réseau Sentinelles sur deux (77 %) était positif pour la grippe.

A l'hôpital, les mêmes tendances sont retrouvées avec des taux de détection plus faibles que ceux observés dans le cadre du réseau Sentinelles, environ 29 % de détections de virus grippaux au pic épidémique. Seuls 10 % 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 sous-type A(H1N1)pdm09. Les virus A(H3N2) restent donc non sous-typés en grande majorité. Ce sous-typage ciblé des virus A(H1N1)pdm09 dans de nombreux laboratoires hospitaliers, ne permet pas d'évaluer en temps réel l'évolution épidémiologique des virus de type A. (réseau RENAL - Figures 13 à 15 ; réseaux Sentinelles et RENAL - Figures 16 à 18).

Les détections du VRS ont débuté significativement plus tôt en FN aux environs de la S43/2015. La vague épidémique a été identique en FN et FS.

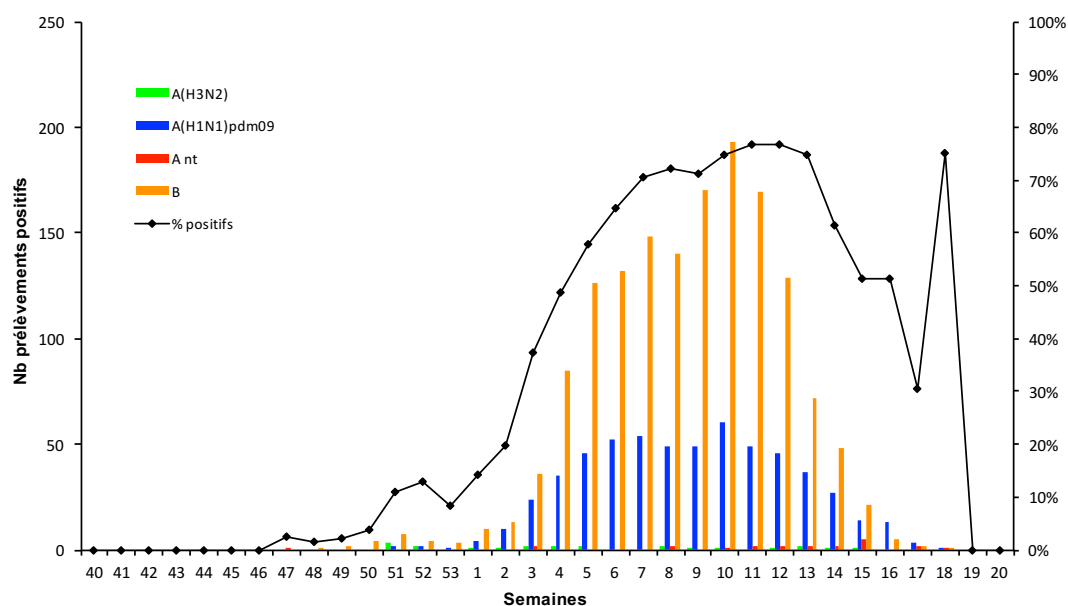


Figure 10 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France Réseau Sentinelles / saison 2015-2016

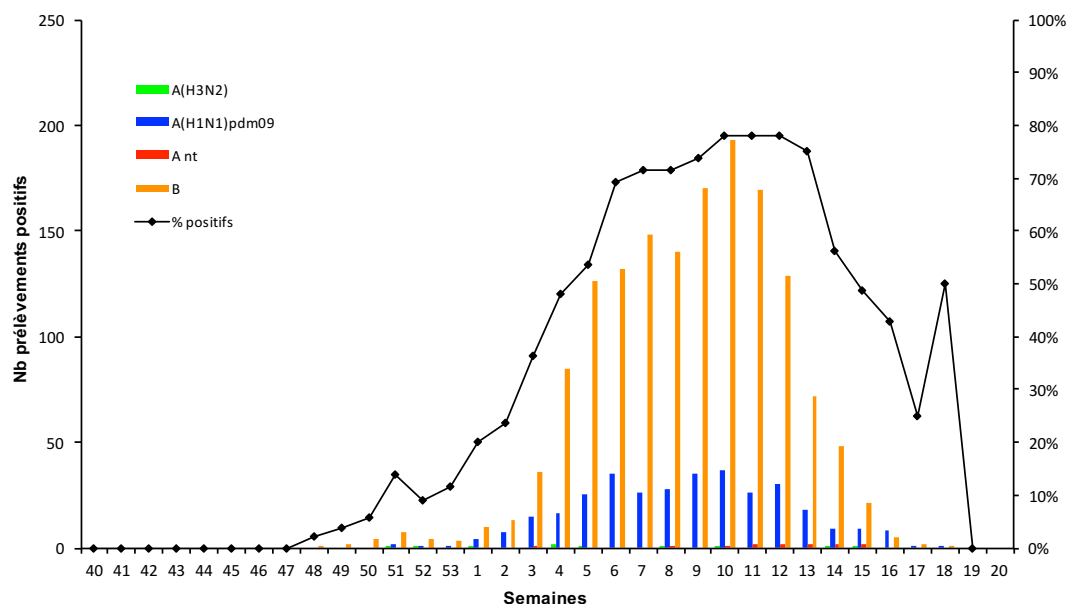


Figure 11 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Nord Réseau Sentinelles / saison 2015-2016

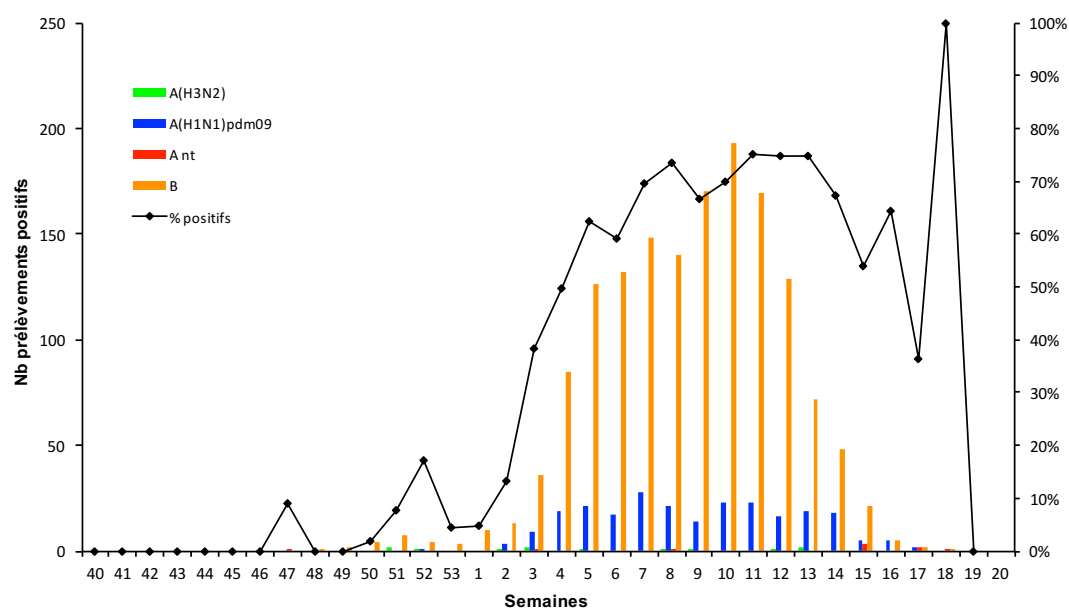


Figure 12 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Sud Réseau Sentinelles / saison 2015-2016

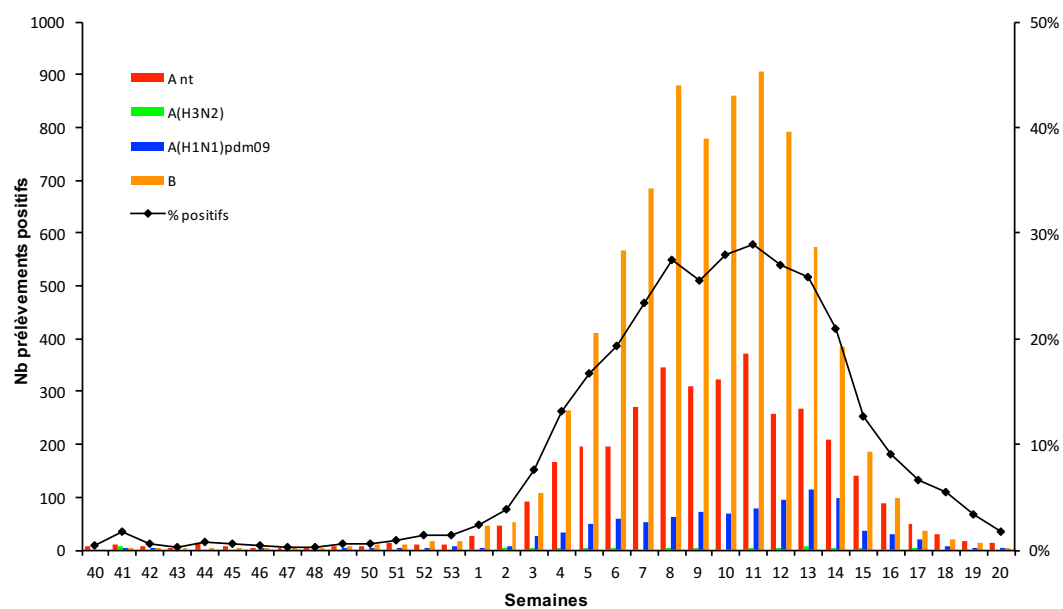


Figure 13 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France Réseau RENAL / saison 2015-2016

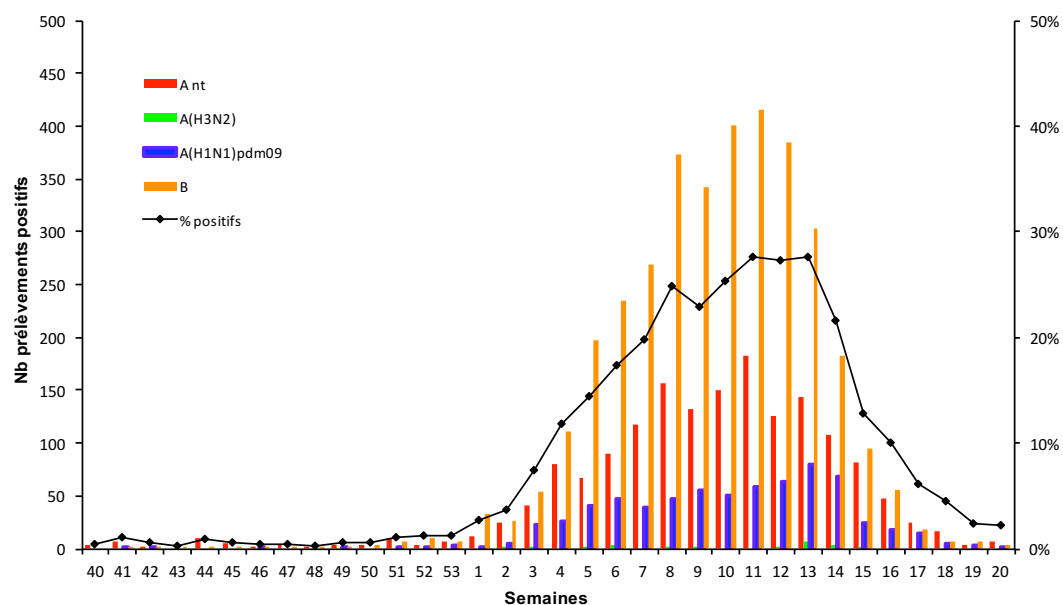


Figure 14 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Nord
Réseau RENAL / saison 2015-2016

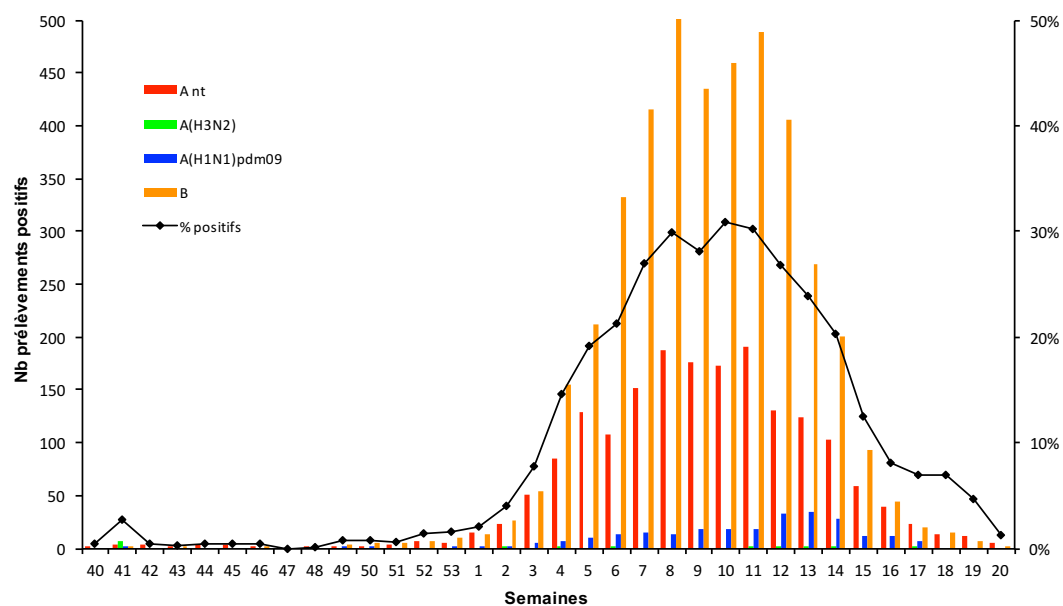


Figure 15 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Sud
Réseau RENAL / saison 2015-2016

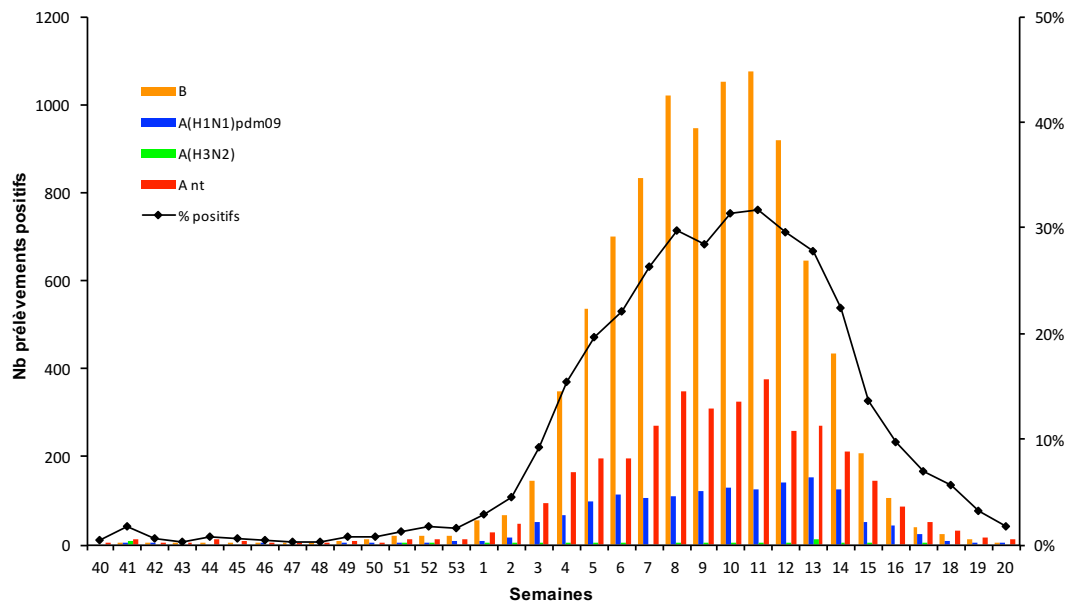


Figure 16 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

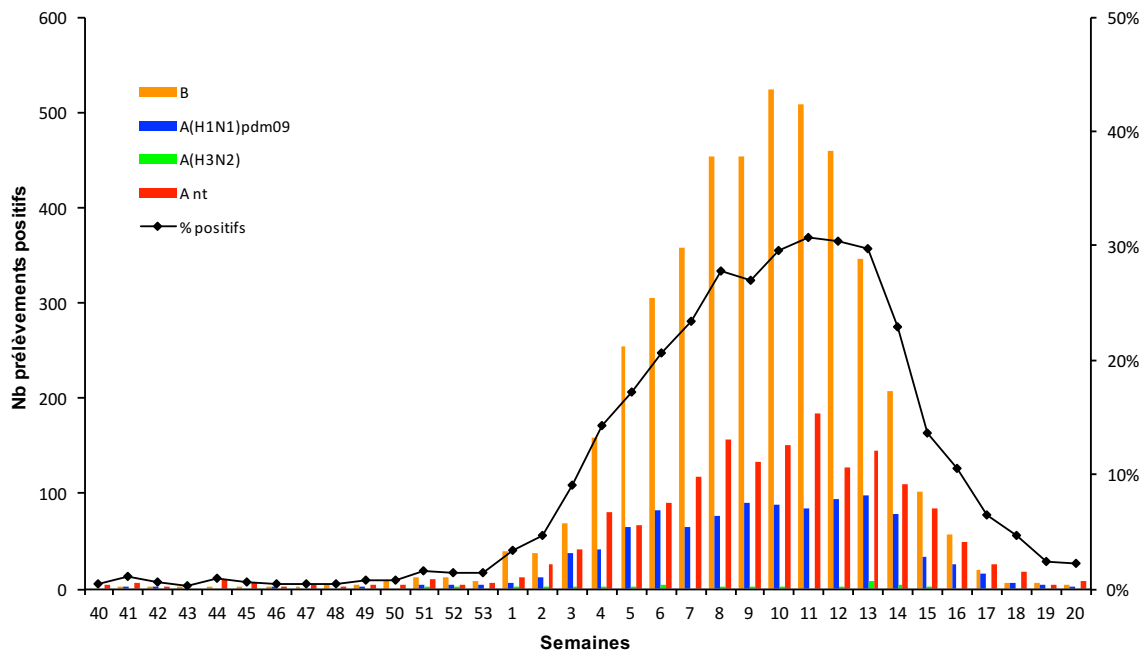


Figure 17 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Nord
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

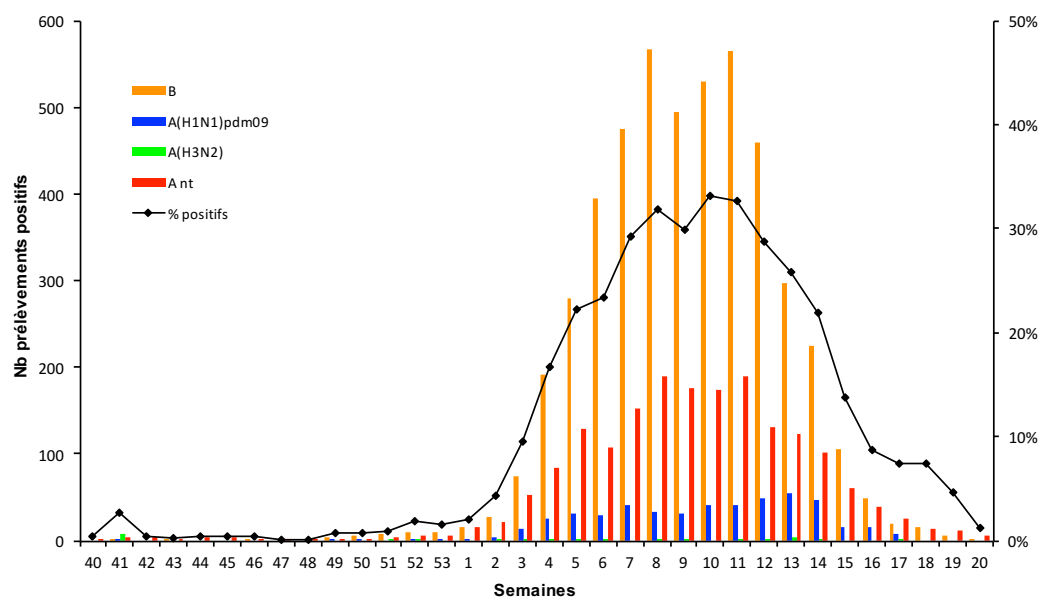


Figure 18 : Détection des virus grippaux par type et sous-type en France-Sud
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

➤ **Caractérisation antigénique des virus grippaux**

L'identification des virus grippaux est réalisée sur les virus isolés en culture cellulaire (MDCK) par inhibition de l'héماغglutination (IHA) à l'aide de sérums de furet spécifiques et des sérums de lapin hyperimmuns préparés par le CNR.

Les CNR-IPP et -HCL ont analysé par IHA un total de 806 virus grippaux parmi les virus isolés lors de la surveillance du réseau Sentinelles 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, 374 virus grippaux de type A dont 363 virus A(H1N1)pdm09, 11 virus A(H3N2) et 432 virus de type B (13 lignage B-Yamagata et 419 lignage B-Victoria) ont été caractérisés.

Virus B

Parmi les isolats de virus de type B, 432 ont été caractérisés par IHA par les laboratoires du CNR. La majorité (97%) appartenait au lignage B-Victoria et était majoritairement analogue à la souche B/Hong/Kong/514/2009.

L'ensemble des virus du lignage B-Yamagata était antigéniquement apparenté à la souche B/Massachusetts/02/2012.

Virus A(H1N1)pdm09

Au total, 363 isolats A(H1N1)pdm09 ont été caractérisés par IHA par les laboratoires du CNR. Ils restent antigéniquement proches des virus de la saison 2015-2016 et apparentés à la souche vaccinale A/California/7/2009 d'après ce test.

Virus A(H3N2)

Cette saison, les virus A(H3N2) ont peu circulé. La caractérisation antigénique des virus A(H3N2) est rendue difficile par l'activité héماغglutinante 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 héماغglutinant qui ne permet plus la caractérisation de ces virus par IHA. Les virus (n=11) qui ont pu être caractérisés antigéniquement sont apparentés à la souche vaccinale A/Switzerland/9715293/2013 pour la majorité (n=7) certains sont variants (n=4) et présentent des profils d'inhibition faibles vis à vis de l'ensemble des sérums de furet.

➤ **Caractérisation génétique des virus grippaux isolés en France**

Le séquençage conventionnel des virus et le séquençage haut débit ont été réalisés pour une sélection représentative des virus ayant circulé en France au cours de la saison 2015-2016. Le pyroséquençage est aussi une technique utilisée au laboratoire pour séquencer rapidement de petites régions d'intérêt au niveau desquelles des mutations peuvent se traduire par des substitutions connues responsables d'une diminution de sensibilité aux antiviraux ou de nouveaux phénotypes.

Pour les CNR-IPP et -HCL, virus ont été séquencés sur 8 à 3 segments :

206 A(H1N1)pdm09 (8 segments n = 152, 3 segments n = 54)

23 A(H3N2) (8 segments n = 14, 3 segments n = 9)

9 B-Yam (gènes M n = 5; gènes BHA n = 9; BNA n = 9).

198 B Vic (gènes M n = 76; gènes BHA n = 197; BNA n = 197)

Les analyses phylogénétiques figurent en annexe 9.

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

Il s'agit notamment de substitutions du résidu D222 dans la HA des virus A(H1N1)pdm09 dont le polymorphisme peut être associé aux formes graves. Ainsi, 50 échantillons provenant de cas graves (patients hospitalisés en réanimation) ont été analysés au CNR-IPP et HCL: chez deux patients hospitalisés en réanimation, un virus grippal de sous-type A(H1N1)pdm09 porteur de la mutation D222G sur l'hémagglutinine a été mis en évidence.

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

Comme le montre le tableau 7, on remarque que la majorité des prélèvements ont été réalisés dans la tranche d'âge 15 à 64 ans (42,4%) alors que la classe d'âge des plus de 65 ans est peu représentée (3,3%). La classe d'âge 0 à 4 ans est plus représentée cette année avec l'arrivée des pédiatres (29,2% contre 5,5% en 2014/2015).

Ce sont les sujets âgés de 5 à 14 ans qui ont été les plus touchés (69% de positivité pour la grippe) ainsi que les sujets de 15 à 64 ans (54,4% de positivité).

France métropolitaine

Age	Nb Prlv	Nb Grippe +	% de + dans la tranche âge	% du groupe d'âge/ total	% + /total +
0-4	1137	429	37,7	29,2	20,9
5-14	971	670	69,0	25,0	32,6
15-64	1650	898	54,4	42,4	43,7
≥65	130	57	43,8	3,3	2,8
Total	3888	2054		100	100

Tableau 7 : Distribution par âge des patients– Réseau Sentinelles

Prélèvements réalisés dans le cadre du Réseau Sentinelles et trouvés positifs pour la grippe en France / Saison 2015-2016

D'après les données de la surveillance en médecine de ville les virus de type A et B ont co-circulé, avec une nette prédominance des virus de type B (72%) dont 98% du lignage B-Victoria et des virus de grippe A(H1N1)pdm09 (26,3%). Les virus de grippe B ont touché toutes les classes d'âge et plus particulièrement les 5-14 ans (84,2%). Les virus de grippe A(H3N2) n'ont quasiment pas circulé (1,3%).

Age	Nb Grippe +	Nb grippe A non sous-typé	(%)	Nb grippe A H1pdm09	(%)	Nb grippe A/H3	(%)	Nb grippe B	(%)	total
0-4	429	2	0,5	123	28,7	4	0,9	300	69,9	100
5-14	670	1	0,1	98	14,6	7	1,0	564	84,2	100
15-64	898	5	0,6	299	33,3	15	1,7	579	64,5	100
≥65	57	1	1,8	20	35,1	0	0	36	63,2	100
Total	2054	9	0,4	540	26,3	26	1,3	1479	72	100

Tableau 8 : Distribution par tranche d'âge et par (sous)-type viral - Réseau Sentinelles
Prélèvements réalisés dans le cadre du Réseau Sentinelles et trouvés positifs pour la grippe en France / Saison 2015-2016

➤ Cas de grippe confirmés virologiquement chez des personnes vaccinées

Lors de la saison 2015-2016, parmi les prélèvements de patients pour lesquels le statut vaccinal était connu (97,7 % des patients Sentinelles), 4,5 % seulement provenaient de patients vaccinés (inférieur aux 8,6% de patients vaccinés en 2014-2015 et aux 11,7 % de vaccinés parmi les patients prélevés de la saison 2008-2009) (Tableau 9). Le pourcentage de détection de virus grippaux était de 53,2% parmi les vaccinés et de 52,9 % chez les non vaccinés, valeurs différentes des saisons précédentes (31,5 % parmi les vaccinés et 35,4 % chez les non vaccinés en 2013-14), vraisemblablement en raison de la circulation majoritaire de virus de type B du lignage B-Victoria, non inclus dans le vaccin.

France métropolitaine

Statut	Grippe +		Grippe -		Effectif	
	Nbre	(%)	Nbre	(%)	Nbre	(%)
Vaccinés	92	4,5	81	4,5	173	4,5
Non Vaccinés	1937	95,5	1726	95,5	3663	95,5
Total	2029		1807		3836	

Tableau 9 : Statut vaccinal - Distribution des virus grippaux détectés au CNR
Réseau Sentinelles / saison 2015-2016

Parmi les personnes prélevées dans le cadre du réseau Sentinelles, le pourcentage de vaccinés est resté très faible dans les tranches d'âge inférieures à 65 ans (2,4 à 4,6%). 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 34,6%, valeur en baisse par rapport aux saisons antérieures (saison 2014-15 44,1%, saison 2013-14 51,9%) (Tableau 10).

Age (ans)	0-4	(%)	5-14	(%)	15-64	(%)	≥65	(%)
Vaccinés	28	2,8	23	2,4	75	4,6	47	34,6
Non Vaccinés	1099	97,5	931	97,6	1551	95,4	82	63,6
Total	1127		954		1626		129	

*Tableau 10 : Statut vaccinal - Distribution par tranche d'âge
Nombre de prélèvements de patients testés au CNR - Réseau Sentinelles / saison 2015-2016*

Remarque : Les comparaisons avec les saisons précédentes sont à prendre avec beaucoup de prudence en raison du changement de la définition de cas suite au changement de réseau de surveillance communautaire depuis la saison 2014-15. De plus l'absence de pédiatres au cours de la saison 2014-15 est à considérer.

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 détections/isolements réalisés en milieu hospitalier à l'exception du VRS et des rhino/enterovirus qui sont également systématiquement recherchés dans les prélèvements provenant de la surveillance en médecine de ville du réseau Sentinelles.

➤ VRS

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 une semaine pour la région sud (Figures 19 à 21). Sa circulation au cours de la saison a été légèrement plus intense que l'année dernière, dans les hôpitaux. L'arrivée des pédiatres dans le réseau Sentinelles va nous permettre de mieux évaluer l'incidence des VRS en médecine ambulatoire, bien que la définition de cas du réseau Sentinelles soit trop restrictive pour le VRS (fièvre supérieure à 39°C, myalgies et signes respiratoires).

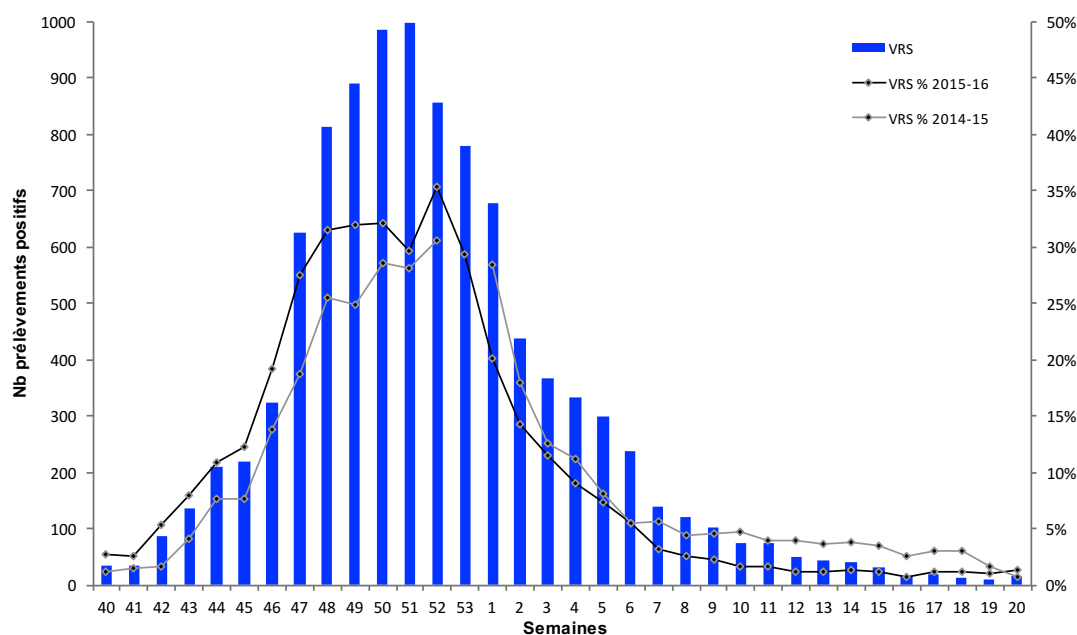


Figure 19 : Détection du VRS en France
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

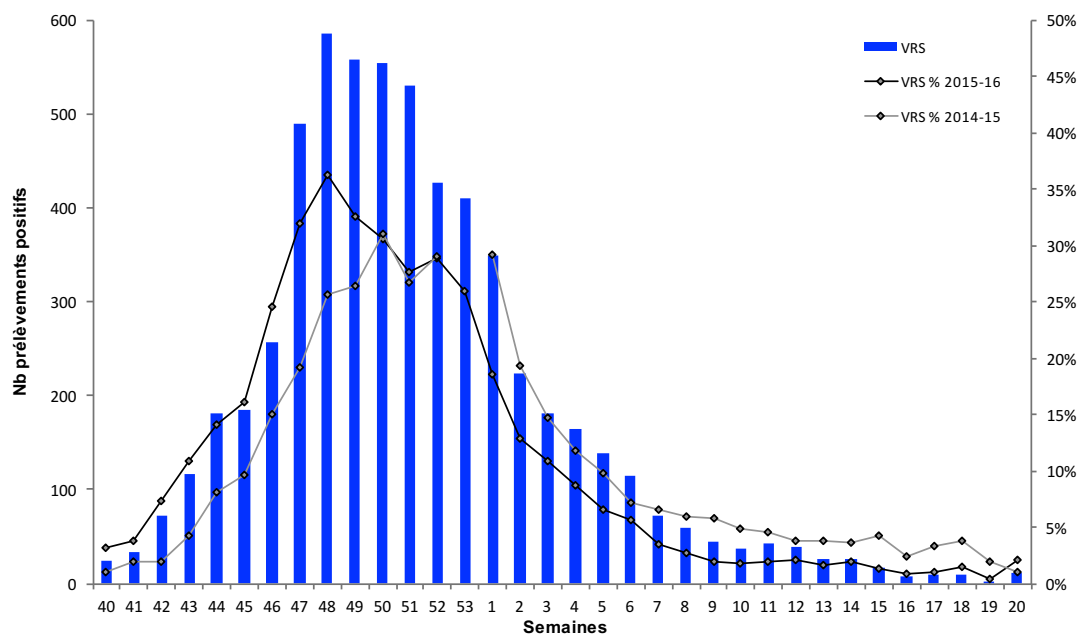


Figure 20: Détection du VRS en France-Nord
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

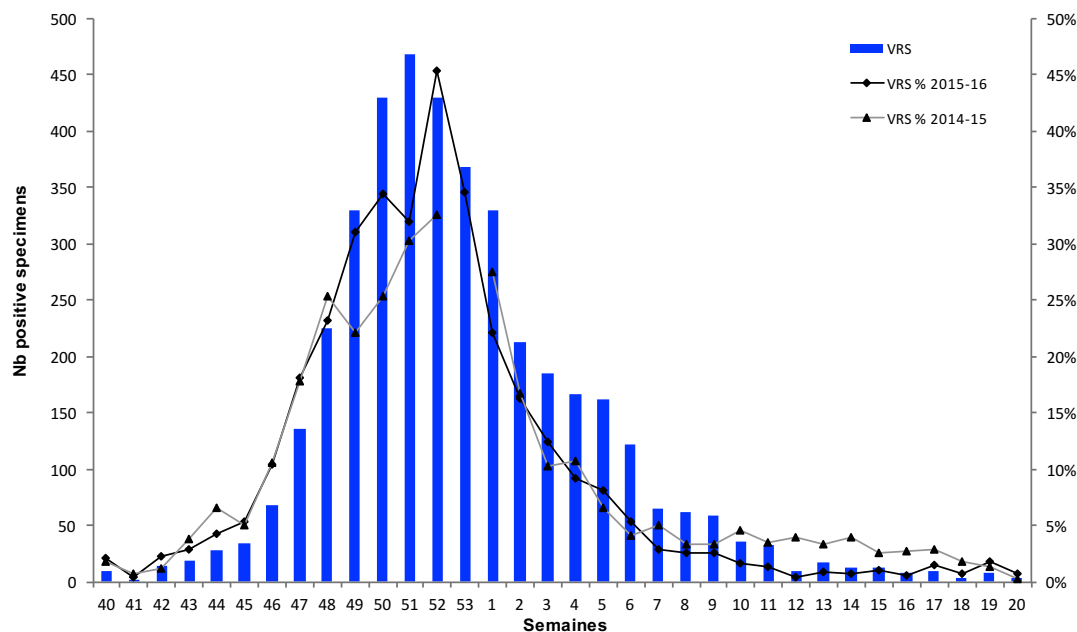


Figure 21: Détection du VRS en France-Sud
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

➤ Rhinovirus humains

Les rhinovirus ont été détectés de façon quasiment continue tout au long de la saison 2015-2016. Leur circulation a diminué légèrement lors de l'épidémie de VRS (S44/2015-S04/2016) et ils se sont maintenus à un taux faible tout au long de l'épidémie de grippe (S03/2016-S17/2016) (Figures 22 à 24).

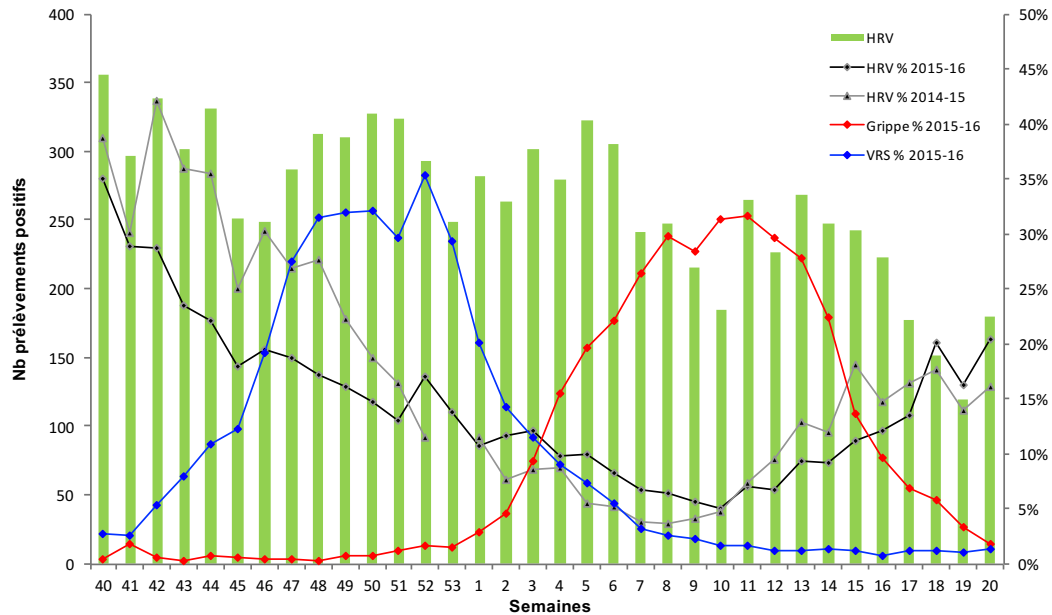


Figure 22: Détection des rhinovirus humains en France
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

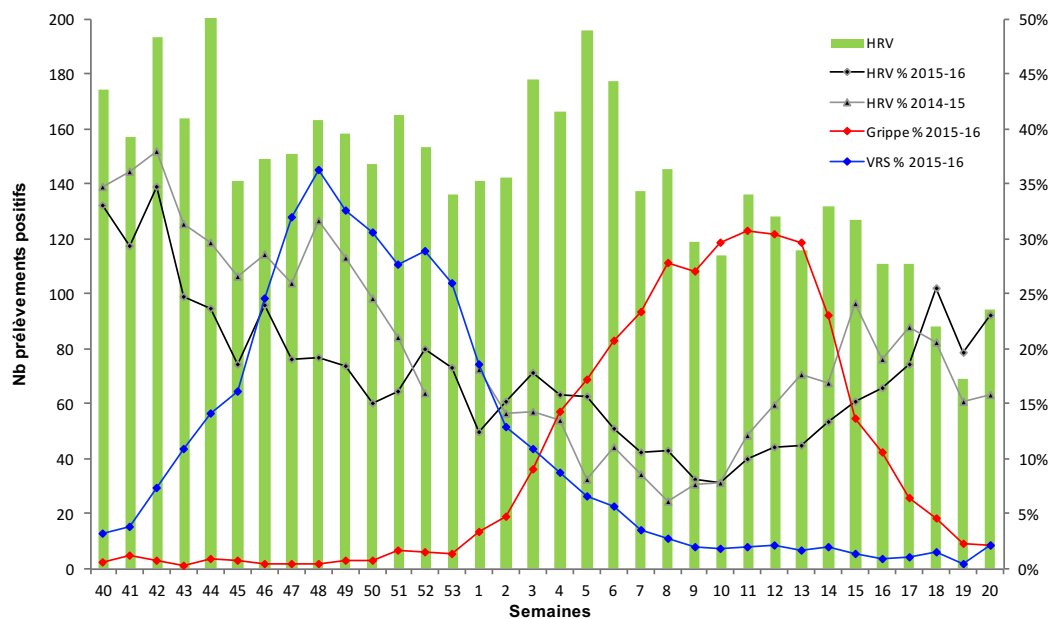


Figure 23: Détection des rhinovirus humains en France-Nord
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

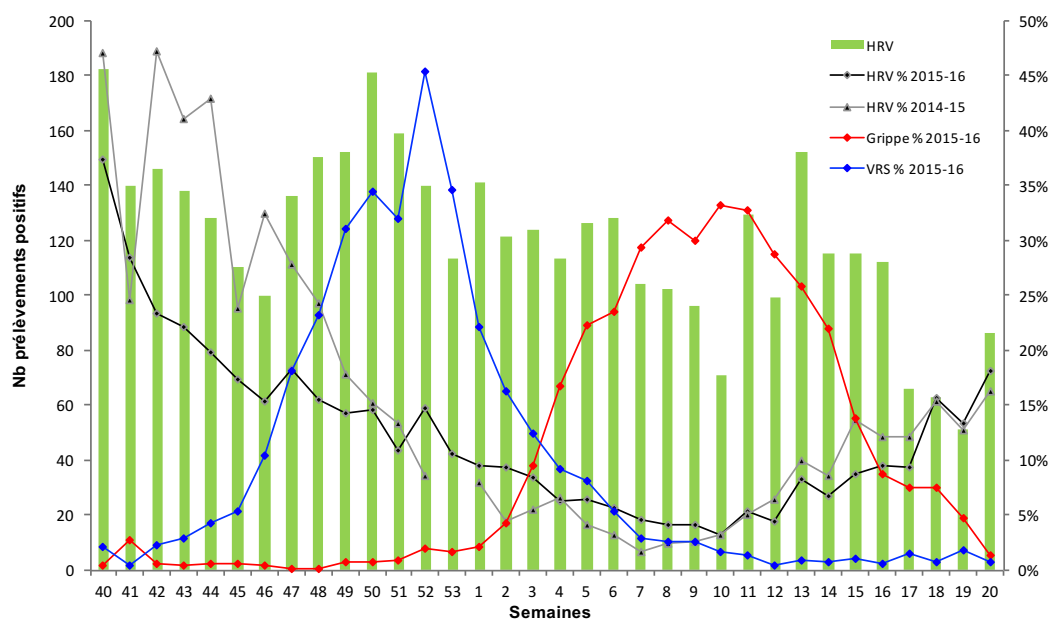


Figure 24: Détection des rhinovirus humains en France-Sud
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

➤ Adénovirus

Les adénovirus ont été détectés/isolés de façon continue tout au long de la saison 2015-2016 avec une circulation globalement faible et un pourcentage de prélèvements positifs toujours inférieur à 4% (Figure 25).

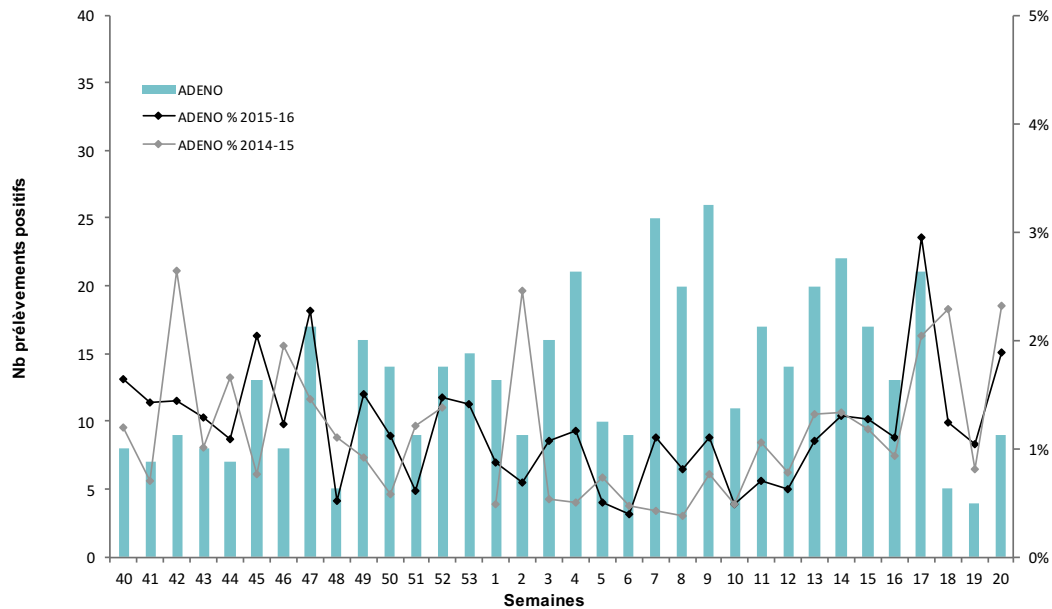


Figure 25: Détection des adénovirus en France
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

➤ Virus parainfluenza

Les virus parainfluenza ont été détectés à un niveau faible tout au long de la saison 2015-2016 (Figure 26).

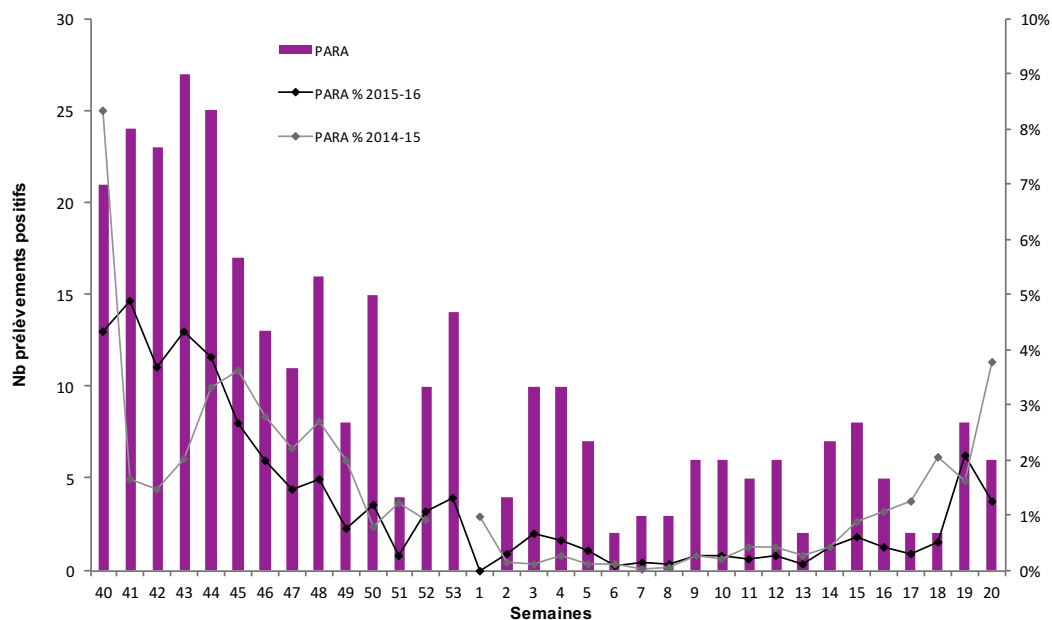


Figure 26: Détection des virus parainfluenza en France
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

➤ **Métapneumovirus humains**

Comme la saison dernière, la circulation des métapneumovirus humains a augmenté de façon continue tout au long de l'hiver 2015-2016 avec des valeurs équivalentes à celles de la saison 2014-2015 (Figure 27).

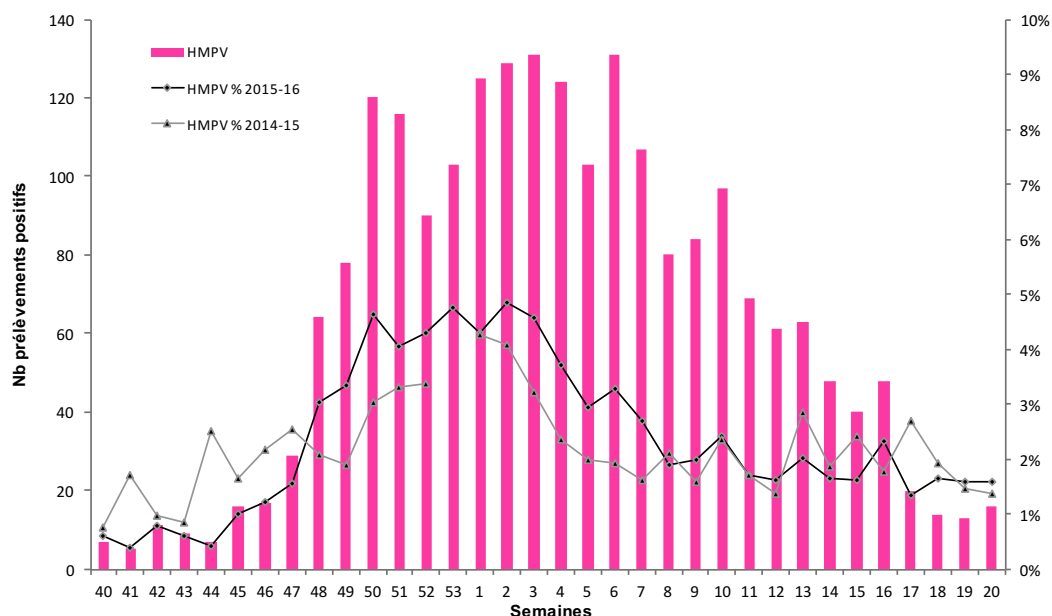


Figure 27: Détection des métapneumovirus humains en France
Réseaux Sentinelles et RENAL / saison 2015-2016

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

Pendant la période de surveillance active, les données de la surveillance virologique issue des réseaux Sentinelles 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 Santé Publique France. Ces données sont ainsi mises en commun avec les données de surveillance du réseau Sentinelles et les données collectées par SPF (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 SPF et de la transmission des données au réseau européen EISN/ECDC (cf ci-dessous § 3.3).

3.1.2 Surveillance en Région Antilles-Guyane

3.1.2.1 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 18 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, Macouria, 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 annuelle, 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 d'au moins un signe respiratoire » et évoluant depuis moins de 48H.

La surveillance de la grippe repose également sur une surveillance hospitalière en collaboration avec les laboratoires des hôpitaux de Guyane et des CHU des Antilles. Enfin, des laboratoires d'analyses de biologie médicale (LABM) privés, dont le LABM de l'Institut Pasteur de la Guyane ou encore des Centres Délocalisés de Prévention et de Soin (CDPS) participent 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, en semaine 9 (S09/2016) et s'est prolongée jusqu'en semaine 26 (S26/2016), soit 17 semaines au total. Elle est restée d'ampleur modérée, avec toutefois 5 cas sévères et 1 décès recensés. Une seconde vague, particulièrement tardive, est observée en septembre 2016 (toujours en cours au moment de la rédaction de ce rapport).

Aux Antilles, l'épidémie 2015-2016 a duré respectivement 13 et 18 semaines : de la semaine 6 (S6/2016) à la semaine 18 (S18/2106) en Guadeloupe et de la semaine 3 (S3/2016) à la semaine 21 (S21/2106) en Martinique. Malgré une ampleur faible dans ces deux départements, l'épidémie a été caractérisée par une sévérité plus importante qu'au cours des épidémies précédentes avec une proportion de cas hospitalisés en réanimation et une létalité plus élevées : respectivement 14 cas graves hospitalisés en réanimation et 3 décès en Guadeloupe et 19 cas hospitalisés en réanimation dont 8 décès en Martinique. Ces cas sévères ont majoritairement concerné des adultes de plus de 55 ans avec facteurs de risque et non vaccinés, infectés par un virus A(H1N1)pdm09.

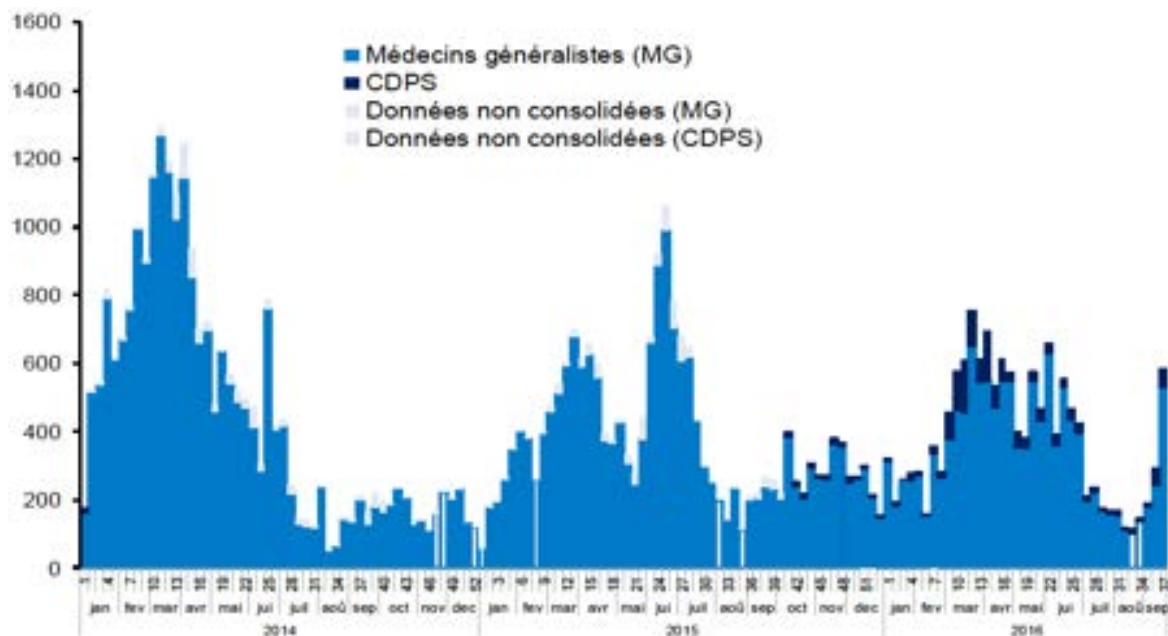


Figure 28: Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal Médecins généralistes de Guyane ou CDPS – janvier 2014 à septembre 2016 (Source Cire Antilles Guyane)

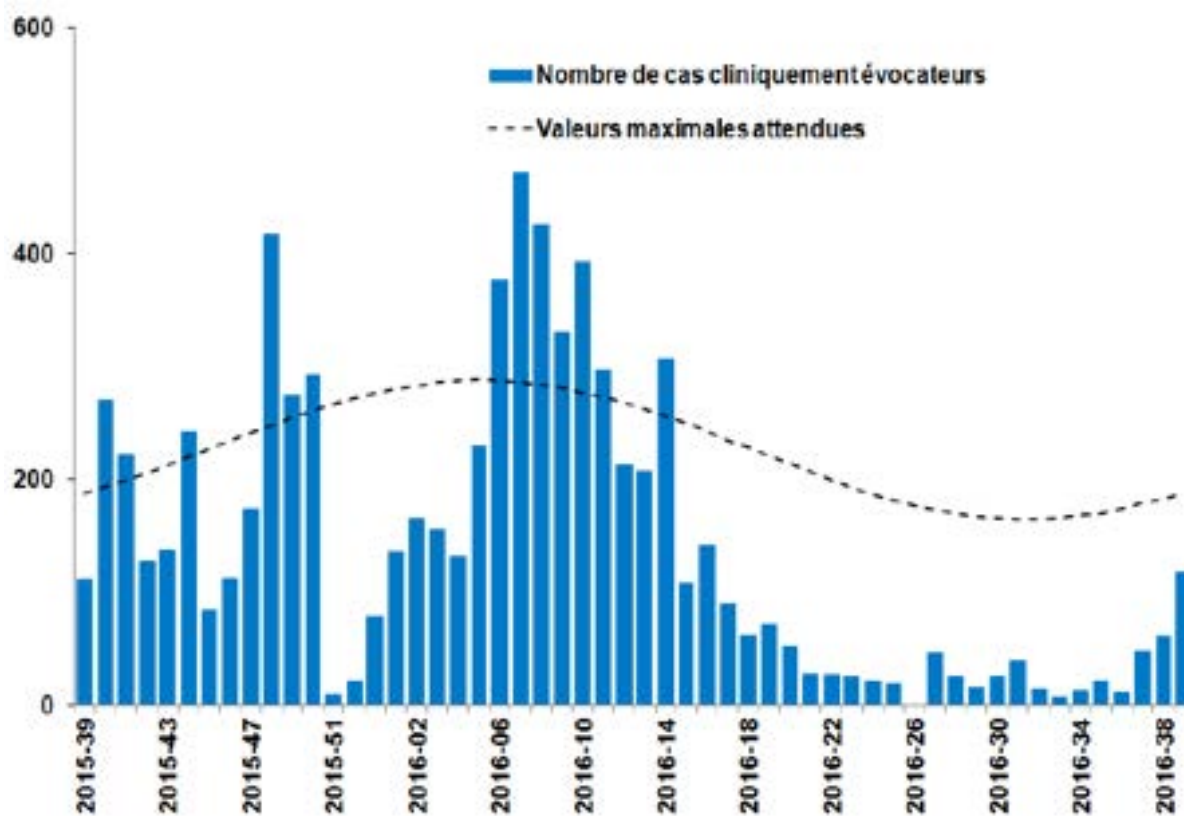


Figure 29: Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal Médecins généralistes de Guadeloupe – septembre 2015 à septembre 2016 (Source Cire Antilles Guyane)

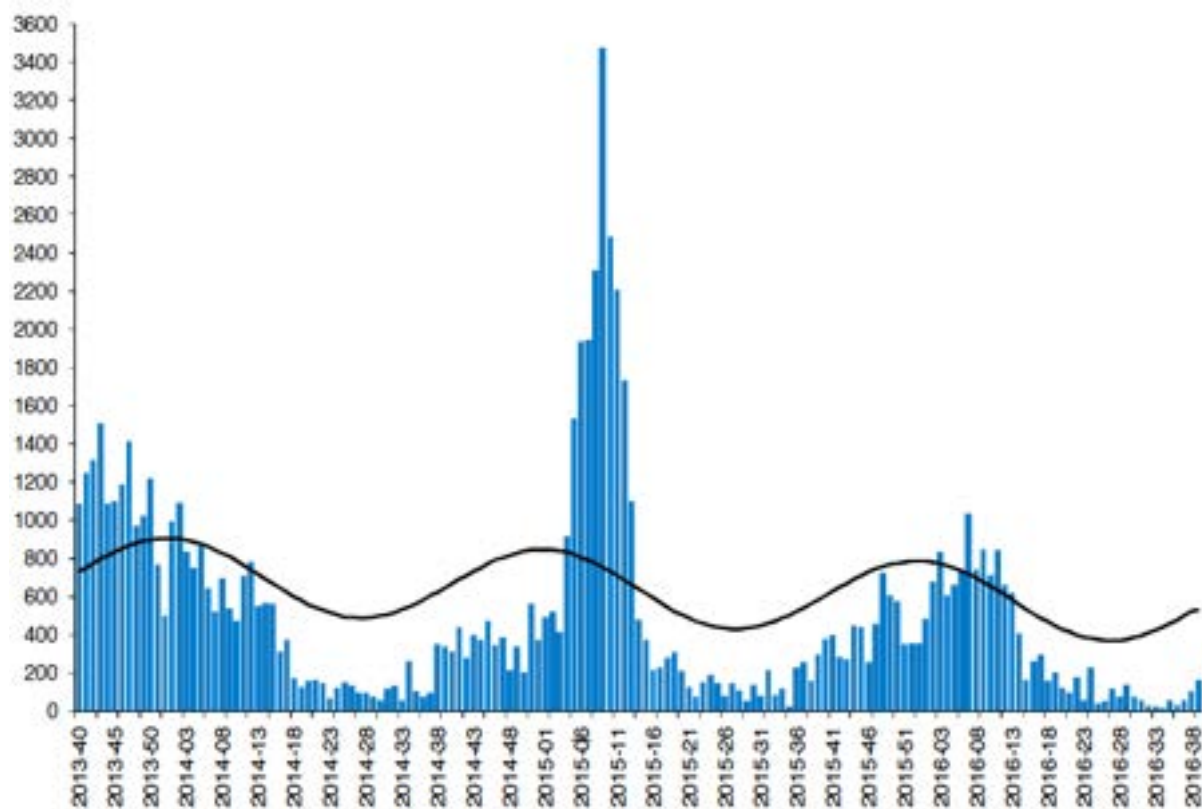


Figure 30 : Estimation du nombre hebdomadaire de consultations pour syndrome grippal
Médecins généralistes de Martinique – octobre 2013 à septembre 2016 (Source Cire Antilles
Guyane)

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-IPG, la saison 2015-2016 a été marquée par une circulation virale prolongée de fin 2015 jusqu'à la fin du premier semestre suivie d'une reprise de circulation épidémique, en Guyane, en septembre 2016 (Figure 31).

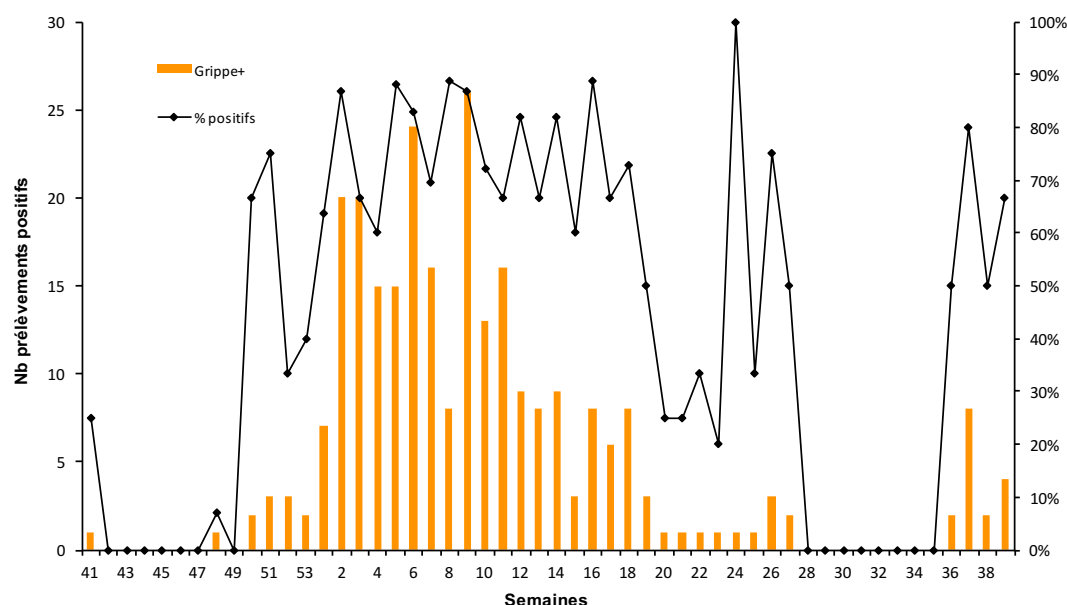


Figure 31: Détection des virus grippaux en région Antilles Guyane CNR-IPG / saison 2015-2016

Le nombre de prélèvements reçus au CNR-IPG en provenance de Guyane pour la saison 2015-2016 a été en nette diminution liée à la diminution à la fois des prélèvements du réseau sentinelle et à celle des prélèvements hospitaliers. Cette diminution peut en partie être expliquée du fait de l'épidémie à virus Zika en Guyane 2016 mais aussi du fait de la réorganisation des activités grippe au laboratoire du centre hospitalier de Cayenne. La circulation épidémique a une nouvelle fois été prolongée mais aussi biphasique avec une seconde phase épidémique particulièrement tardive, en septembre 2016 (Figures 28–32). Le nombre de détections de VRS est resté très faible notamment du fait de la très forte diminution des prélèvements pédiatriques d'origine hospitalière. Aucun virus VRS n'a ainsi été détecté au delà de la semaine 7 de 2016.

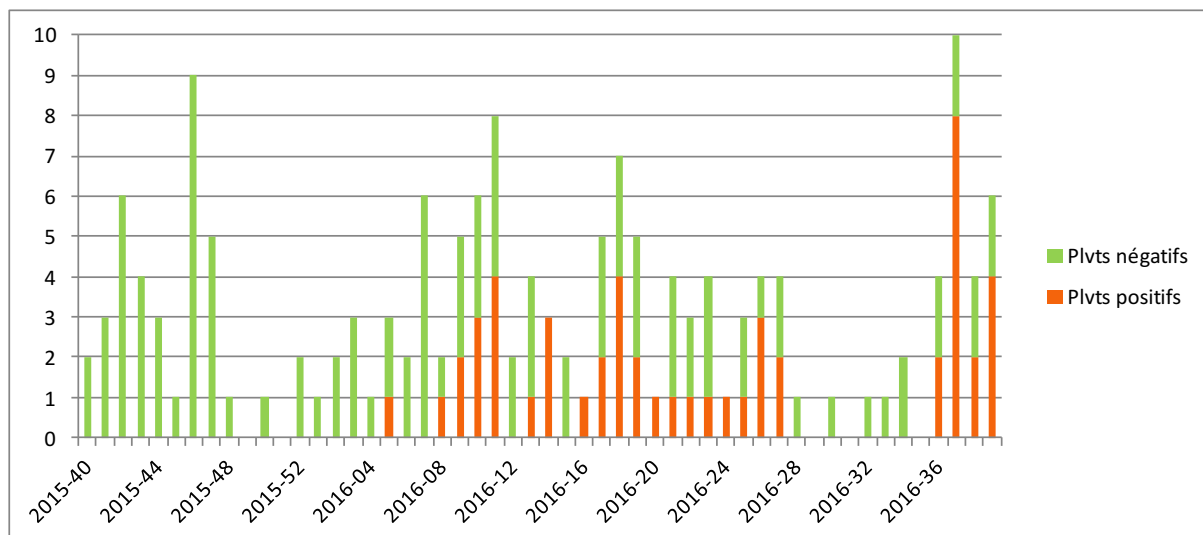


Figure 32 : Détection des virus grippaux en Guyane - CNR-IPG / saison 2015-2016 (semaines 2015-40 à 2016-39)

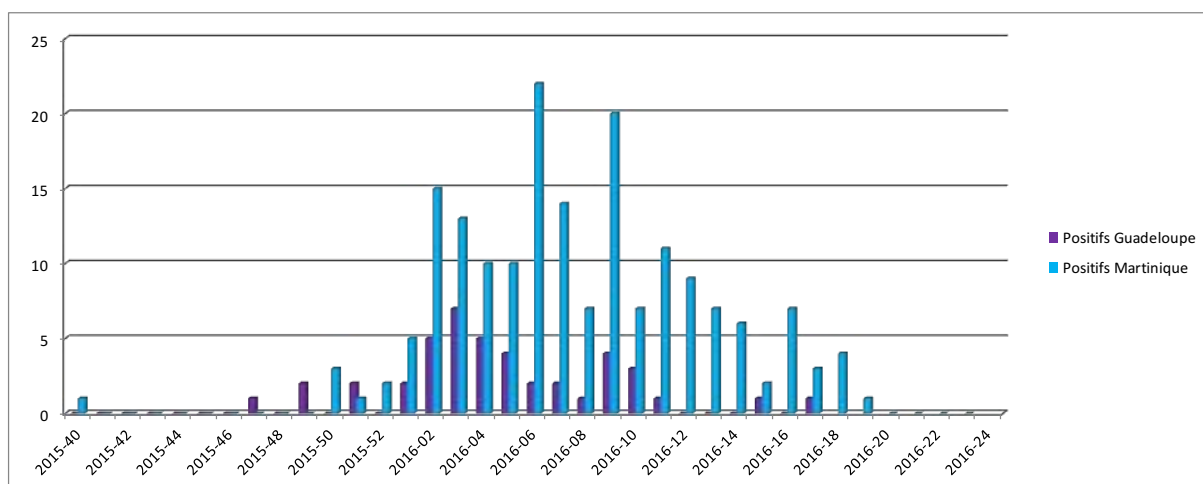


Figure 33 : Détection des virus grippaux aux Antilles (Martinique + Guadeloupe) CNR-IPG / saison 2015-2016 (semaines 2015-40 à 2016-23)

➤ **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 34 à 36):

- pour la Guyane, co-circulation virale avec sur l'ensemble de la saison une large prédominance de virus de type A (40 ; 78.4%) et parmi les virus de type A une première vague épidémique liée au virus A(H1N1)pdm09 puis une seconde vague, en septembre 2016, liée au virus A(H3N2). Les virus de type B détectés cette saison (11 ; 21.6%) l'ont tous été au cours de la première vague épidémique et appartenaient tous au lignage B-Victoria.
- pour la Guadeloupe comme pour la Martinique, co-circulation virale avec large prédominance de virus de type A (169; 75.8%) essentiellement A(H1N1)pdm09 (163; 73.1%) associée à une circulation de virus de type B : majoritairement de lignage Yamagata (8/9B ; 88.9%) en Guadeloupe et de lignage B-Victoria en Martinique (40/45 B ; 88.9%)

Rq : Parmi les 14 virus A(H1N1)pdm09 et les 8 virus B Victoria caractérisés antigéniquement au CNR-IPP ou au CDC, tous étaient antigéniquement proches de la souche correspondante présente dans le vaccin hémisphère nord 2015-2016. Par contre, les 2 virus A(H3N2) caractérisés antigéniquement se sont avérés antigéniquement variants par rapport à la souche du vaccin hémisphère nord 2015-2016) et proches de A/Hong Kong/4801/2014 recommandé comme souche vaccinale depuis.

Les virus A(H3N2) responsables de la 2^{nde} vague épidémique observée en Guyane en septembre 2016 sont en cours de caractérisation à l'IPP

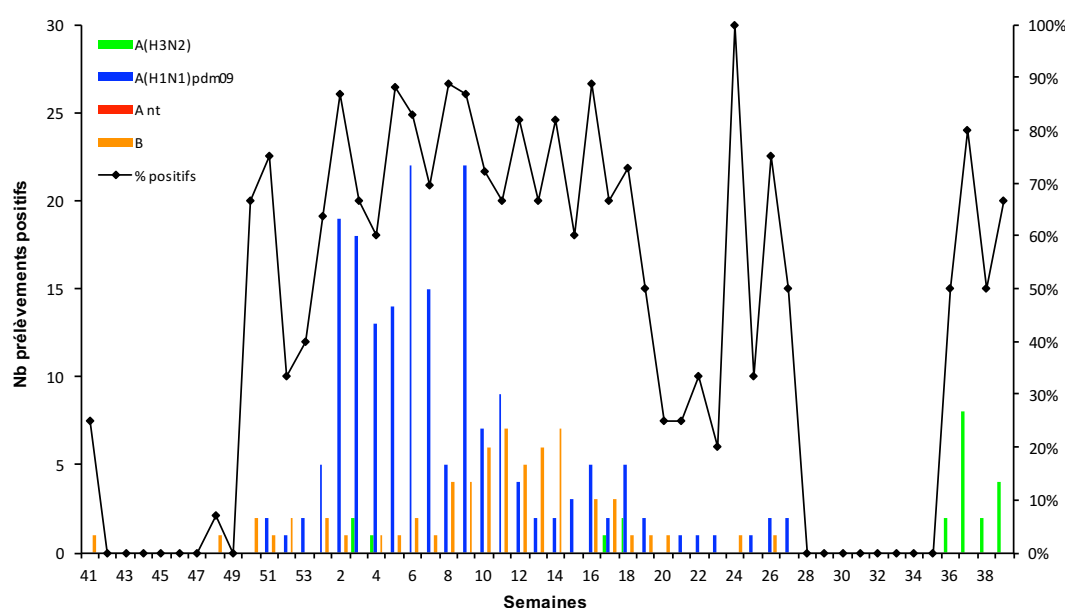


Figure 34 : Répartition des virus grippaux détectés en région Antilles-Guyane
CNR-IPG / saison 2015-2016

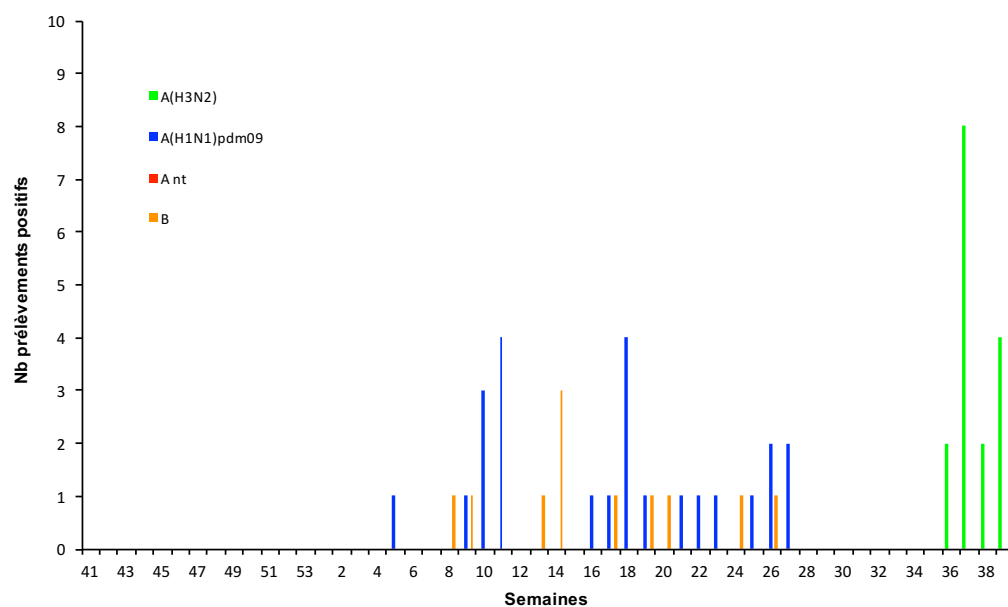


Figure 35: Répartition des virus grippaux détectés en Guyane
CNR-IPG / saison 2015-2016

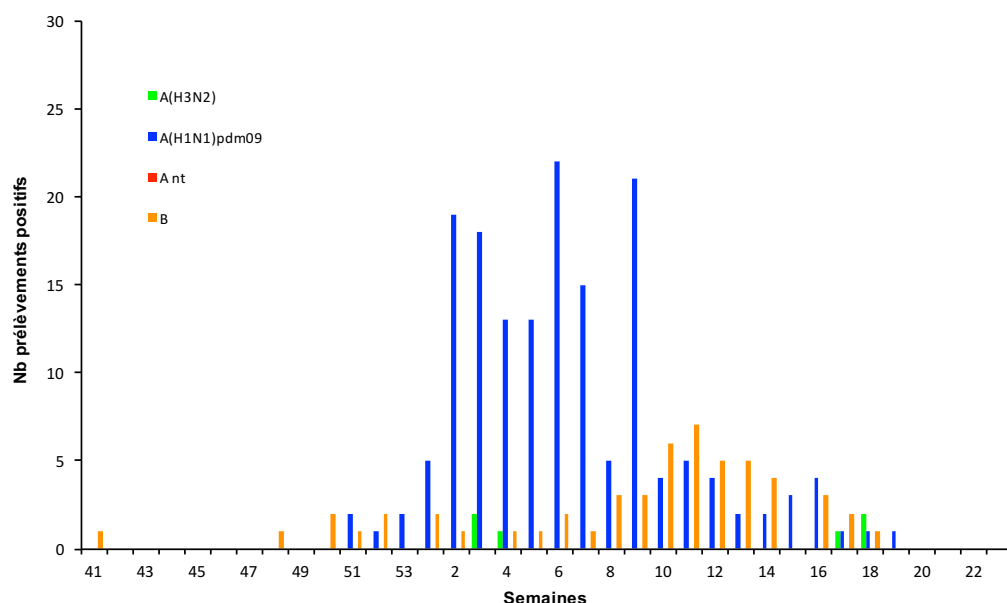


Figure 36 : Répartition des virus grippaux détectés aux Antilles (Martinique et Guadeloupe) CNR-IPG / saison 2015-2016

Dans le cadre de la surveillance sentinelle, l'analyse de la distribution par âge montre que ce sont les patients de 15 à 64 ans qui constituent comme les saisons précédentes la majorité des patients prélevés (69,4 %) tandis que le pourcentage de positivité pour la grippe le plus élevé (54,8%) est observé pour les 5-14 ans (Tableau 11). Les virus de type B ont dominé chez les moins de 15 ans tandis que les virus A(H1N1)pdm09 dominaient largement chez les 15-64 ans (Tableau 12).

Age	Nb prlv	Nb grippe+	% de + dans la tranche d'âge	% du groupe d'âge/total	% de + /total de +
0-4	16	7	43,8%	9,2%	10,0%
5-14	31	17	54,8%	17,9%	24,3%
15-64	120	44	36,7%	69,4%	62,9%
≥65	6	2	33,3%	3,5%	2,9%
Total	173	70	40,5%	100,0%	100,0%

Tableau 11 : Distribution par âge des patients – Région Antilles Guyane Surveillance sentinelle / 2015-2016

Age	Nb Grippe+	Nb grippe A/H1pdm09	(%)	Nb grippe A/H3	(%)	Nb grippe B	(%)
0-4	7	1	14,3%	1	14,3%	5	71,4%
5-14	17	5	29,4%	2	11,8%	10	58,8%
15-64	44	34	77,3%	2	4,5%	8	18,2%
≥65	2	0	0,0%	2	100,0%	0	0,0%
Total	70	40	57,1%	7	10,0%	23	32,9%

Tableau 12 : Distribution par tranche d'âge et par type viral – Région Antilles Guyane
Surveillance sentinelle / 2015-2016

3.2 Détection et investigation de cas groupés et de phénomènes anormaux

Le CNR-IP et le CNR-IPG n'ont pas été saisis cette saison pour l'investigation de cas groupés ou de phénomènes anormaux.

Le CNR-HCL a été sollicité pour l'investigation de cas d'infections respiratoires dans des EHPAD

EHPAD – Fontclair (Bouches-du-Rhône)

En novembre, dans un contexte d'épidémie nous avons reçu 2 échantillons. Le diagnostic de virus grippal A(H3N2) était confirmé pour les 2 patients.

EHPAD – Agen

En janvier, dans un contexte d'épidémie dans un établissement de 85 résidents qui a recensé 9 cas dont un personnel soignant nous recevons 2 prélèvements rhinopharyngés. La recherche de virus grippal est négative mais nous détectons du Rhinovirus pour les 2 patients.

EHPAD – Fondation Grimaud (Roanne)

Début janvier, nous recevons 1 prélèvement dans un contexte de cas d'infections respiratoires (toux persistante + hyperthermie) dans une EHPAD. La recherche de virus respiratoires est négative.

EHPAD – Les Gens d'Ici (Loire)

Nous recevons un appel en février 2016 concernant une épidémie d'IRA dans un EHPAD de la Loire (St Alban-Les-Eaux), signes cliniques : toux, encombrement bronchique, généralement apyrétique. Les 3 patients ont été prélevés le 2/02. Nous diagnostiquons du VRS chez un patient.

3.3 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, pour 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 2015-2016 par rapport à la saison précédente.

3.4 Contribution aux réseaux de surveillance européen et internationaux

3.4.1 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 dans 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.

3.4.2 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.

3.4.1 Contrôle de Qualité

Virus Influenza

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 2015-2016, nous avons reçu un panel en avril 2016 (EQAP panel 15). Ce contrôle de qualité moléculaire pour la détection et le sous-typage des virus de type A (H1pdm09, H3, H5, H7 et H9) et de type B par RT-PCR.

Ainsi, le panel reçu en avril 2016 (EQAP panel 15) comportait 10 échantillons d'ARN extraits correspondant à 4 virus influenza H5, 2 H1pdm09, 1 H3, 1 H9, 1 B et 1 échantillon négatif. Les CNR-IPP, -HCL et -IPG ont pu sous-typer correctement tous les virus.

Virus MERS-CoV

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

Les 3 laboratoires du CNR n'ont pas reçu durant la saison 2015/16 de contrôle de qualité pour la détection du MERS-CoV.

3.5 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 2015-2016.

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/SPFrance et la DGS. Pour la région Antilles-Guyane, le CNR-IPG alerte la CIRE et l'ARS.

Au cours de la saison grippale 2015-2016 aucune note d'alerte n'a été diffusée. Toutefois, le CNR a régulièrement fourni à l'InVS/SPFrance tout au long de la saison des informations concernant les caractéristiques antigéniques des virus grippaux de type B responsables de l'épidémie cette saison et non inclus dans le vaccin (Lignage Victoria) et de l'évolution des virus A(H3N2) et la proportion de virus antigéniquement variants par rapport à la souche de la composition vaccinale de la saison 2015-2016.

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 2015-2016:

Université Paris Diderot, Paris 7

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

Cours 8h : Caractéristiques et variabilité 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 ; Table Ronde 2h : Barrière d'espèces et Zoonoses

UE Virologie Fondamentale – responsable de l'UE

Cours 2h : 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 3h : Introduction à la lutte contre les pathogènes ; Stratégie de lutte contre les pathogènes viraux

UE « Immunologie anti-virale »

Cours 1h30 : pandémies à virus respiratoires et vaccins

Ecole Doctorale Bio-SPC: Directrice du département Infectiologie-Microbiologie

ENS Ulm

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

Cours 3h : Introduction à la virologie ; Biologie des coronavirus et infections respiratoires aiguës

Faculté de pharmacie, Chatenay Malabry

M2 Microbiologie-UE stratégies vaccinales

Cours 3h : Vaccins anti-grippaux

➤ Pr Bruno LINA

Responsable de l'enseignement de la Virologie en FGSM3 pour la faculté de Médecine Lyon Est (Organisation des cours, les enseignements pratiques, des enseignements dirigés) 80h/an

Enseignement « physiopathologie des maladies infectieuses » en FGSM2 pour Lyon Est (2h)

Enseignement en Master 2 : Ecologie microbienne : influenza virus (2h30), EPIRIS – épidémiologie de la grippe (2h)

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

Interviews pour la presse écrite et audiovisuelle

➤ Pr Bruno Lina

Connecting the actors of innovation in vaccinology. Table ronde Biovision, Lyon, Avril 2015

Virus de la grippe : variation des souches et nouveaux vaccins, Académie de Médecine, Paris, Avril 2015

Table ronde Vaccination, 2èmes assises nationales du vaccin - Institut Choiseul, Institut Pasteur, Paris Mars 2015

Conférences de la Villa Gillet : Forum des savoir : la maladie entre l'imaginaire social et le fait politique – Lyon avril 2015

Conférence grand public : Les conférences du Grand Lyon : la grippe, un virus imprévisible en constante réémergence, Lyon mars 2015

➤ **Dr Vincent Enouf**

Interviews pour la presse écrite et audiovisuelle

➤ **Dr Sylvie Behillil**

Interviews pour la presse écrite

5.1.3 Formation, accueil de stagiaires

Au CNR-HCL, accueil du Dr Raquel GUIOMAR (CNR grippe Lisbonne) pour 2 semaine de formation sur les méthodes de serodiagnostic (IHA et séroneutralisation) dans le cadre du programme « twinning training » de l'ECDC et accueil d'une étudiante en Thèse venant de Tunisie (Amira DRIRA) : étude des virus respiratoires dans les Bronchiolites de l'enfant.

Au CNR-IPP, accueil dans le cadre du programme EUPHEM de l'ECDC de Amrish BAIDJOE (étudiant en épidémiologie-Santé publique) pour une durée de 6 mois, à partir du 20 octobre 2015. Son projet : détection de variations potentiellement responsables de modifications antigéniques sur les virus de grippe de sous-type A(H3N2) saisons 2013/14, 2014/15 et 2015/16.

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 CNR.

Chaque semaine, les laboratoires du CNR en métropole adressent à l'InVS/SPFrance les informations relatives aux types, sous-types, lignage, 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/SPFrance. Les laboratoires du CNR assurent la rédaction des données virologiques en concertation avec l'InVS/SPFrance 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 40 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 Voozoo "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 a aussi été utilisé par les laboratoires hospitaliers de la Région Sud au cours de la surveillance 2015-2016 et par l'IPG. L'ensemble des données de surveillance récoltées par le CNR est regroupé sur un site unique sécurisé.

➤ **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 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/SPFrance et permettent d'assurer une rétro-information auprès des différents professionnels de santé du département, des DFA, de l'InVS/SPFrance et de la DGS, tout en faisant le point sur la situation épidémiologique du moment.

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, DGS, DGT

Membre du Groupe de travail « pandémie virale » de la Commission spécialisée Maladies transmissibles du Haut conseil de Santé Publique (S. van der Werf, B. Lina)

Membre du « Groupe Grippe » de la DGS (S. van der Werf, B. Lina)

Membre du Groupe de travail « révision du classement des agents pathogènes » de la DGT ((S. van der Werf, B. Lina).

5.3.1.2 InVS/SPFrance

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

5.3.1.1 ANSES

Membre du Groupe d'Expertise Collective d'Urgence pour les virus H5 (S. van der Werf)

5.3.1.2 ANSM

Expertises pour le compte de l'ANSM (B. Lina)

5.3.1.3 Activités auprès des instances de santé nationales et régionales (DFA)

Activités de conseil auprès des ARS Martinique, Guadeloupe, Guyane et Cire Antilles Guyane

Membre du Comité d'Expert des Maladies à Caractère Epidémique (CEMCE) Guyane (D. Rousset, suppléance A. Enfissi)

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)
- External Advisor du réseau EISN auprès de l'ECDC (B. Lina)
- Membre de l'ERLI-Net coordination committee pour l'ECDC, 2014-2016/2015 (B. Lina)
- Membre du RSV working group pour l'ECDC 2015-2017 (B. Lina)
- Membre du EUPHEM advisory forum pour l'ECDC (B. Lina)

-

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)
- Participation au « Technical Consultation on Maternal Influenza Immunization Evidence and Implementation », 25-26 March 2015, WHO-HQ, Geneva, Switzerland (S. van der Werf).
- Participation au 10th Meeting of the WHO Global Action Plan (GAP) Advisory Group (AG) for Influenza Vaccines (Closed Session), 19 March 2015, Sao Paulo, Brazil (S. van der Werf).
- Membre du PIP Framework working group (S. van der Werf).
- Membre du Working Group on Molecular diagnostics; participation au WHO PCR Working Group Meeting, 23-24 June 2015, Geneva, Switzerland (V. Enouf)
- Temporary advisor for the WHO DG's Consultation with member states (IGM for the sharing of influenza viruses and benefits) (B. Lina)
- Participation au groupe "Fight against respiratory viruses" (B. Lina)

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

➤ Pr Sylvie van der WERF

- 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
- Vice-chair working group 3 "pathogenesis" du consortium international ISARIC
- Membre du comité scientifique du antiviral group ISRV
- Membre de l'Association et membre du bureau du Réseau des Groupes Régionaux d'Observation de la Grippe (GROG)
- 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'European Scientific Working Group on Influenza (ESWI)
- Membre du Scientific Advisory Board de BioVision
- 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 scientific committee du Global Influenza Initiative
- Editeur associé de Journal of Clinical Virology
- Editeur associé de Influenza Treatment and Prevention

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 rapport avec l'activité du CNR-IPP sont centrées sur l'évolution génétique des virus influenza et les mécanismes qui sous-tendent cette évolution en lien avec la capacité de changement d'espèce des virus influenza ainsi que sur le décryptage des interactions virus-hôte avec pour objectifs une meilleure compréhension de la spécificité d'hôte et de la pathogénèse virale ainsi que l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles.

Ces travaux s'inscrivent notamment dans le cadre des projets européens FP7-PREDEMICS (coordinateur S. van der Werf), FP7-PREPARE (coordinateur H. Goossens), FP7-FIBEBIOTICS (coordinateur J. Mes), du Labex IBEID (coordinateurs P. Cossart et P. Sansonetti, IP, Paris) et du projet ANR FLUD (coordinateur M. Ducatez, INRA, Toulouse).

➤ *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 (NGS) (collaboration M. Vignuzzi, IP, Paris). La diversité génétique est explorée pour des isolats viraux produits sur différents substrats cellulaires représentant les différents niveaux du tractus respiratoire ou provenant de différents hôtes à différentes températures ainsi que sur des prélèvements primaires issus de l'activité du CNR. Ces travaux ont d'ores et déjà permis de montrer à partir de prélèvements primaires issus de patients une diversité génétique significativement accrue chez les patients atteints de formes sévères d'infection virale par rapport aux formes plus bénignes. Ils ont également permis de révéler des différences de diversité génétique selon les sous-types viraux (Barbezange et al. soumis).

En lien avec ces observations nous cherchons à identifier les déterminants et facteurs de variations de la fidélité de la polymérase virale qui gouvernent la diversité des populations virales. Pour ce faire nous utilisons des approches de mutagenèse aléatoire ou dirigée des gènes du complexe polymérase et de la nucléoprotéine (NP) requis pour la réplication du génome viral. L'impact des mutations sur la réplication, la capacité de multiplication virale, la sensibilité à différents mutagènes ainsi que la diversité de la population virale est ensuite analysé.

L'identification de déterminants intrinsèques de la fidélité de la polymérase pour des virus de différents sous-types et espèce hôte d'origine, pourrait avoir une valeur prédictive de la capacité d'évolution et d'adaptation des virus influenza, plus particulièrement pertinente pour l'évaluation du risque associé aux virus influenza zoonotiques. (*F. Andrieux, Doctorant*)

Parallèlement, nous avons entrepris l'étude de l'interaction des protéines du complexe polymérase et de la NP issus de virus de différents sous-types et espèce hôte d'origine avec une sélection de protéines cellulaires impliquées dans des activités exo(ribo)nucléases et de relecture/correction, ou appartenant aux réseaux exosomes de la cellule. Les interactions entre ces facteurs cellulaires et les protéines du complexe polymérase établies en utilisant un essai de complémentation protéique (PCA) seront étudiées en contexte infectieux, les domaines d'interaction seront caractérisés et leurs implications fonctionnelles pour la réplication virale et sa fidélité étudiées.

L'identification et la caractérisation de partenaires cellulaires impliqués dans la modulation de la fidélité de la polymérase des virus influenza pourraient permettre, à long terme, d'envisager de nouvelles approches thérapeutiques utilisables notamment en cas de nouvelle pandémie. (*M. Declercq, Doctorante*).

Un deuxième volet concerne le deuxième mécanisme de variation génétique des virus grippaux, le **réassortiment**. En se fondant sur les travaux antérieurs qui ont permis 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 (Crescenzo et al. PLoS One 2013 ; PLoS One, 2014) nous cherchons à mieux comprendre le rôle des séquences non-codantes non conservées dans le processus d'incorporation des segments viraux dans les particules virales. Des virus recombinants dans lesquels les séquences non codantes du segment NA ont été remplacées par celles de chacun des 7 autres segments ont été produits et se sont révélés atténués pour la multiplication virale du fait d'un défaut spécifique d'incorporation du segment NA modifié. L'analyse des mutations qui restaurent le phénotype de multiplication virale et l'incorporation du segment NA après passages successifs en culture nous renseigne sur de nouveaux déterminants qui gouvernent l'emballage des segments viraux. 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*).

➤ **Déterminants de restriction d'hôte et de transmission inter-espèces et identification de nouvelles cibles thérapeutiques**

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 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 (Fournier et al. PLoS Path 2014 ; Diot et al. Scientific Reports 2016).

Selon des approches similaires C. Demeret s'intéresse aux interactions différentielles des RNP avec le système ubiquitine protéasome (Collaboration S. Sanyal, IP Hong Kong, Chine) Des approches d'interactomique à très haut débit développées par le groupe de Y. Jacob, permettent aujourd'hui d'aborder l'étude différentielle des réseaux d'interaction des protéines virales à très large échelle (i.e. vis à vis de l'ensemble de l'ORFEOME humain) et de façon comparative pour les protéines virales issues de virus influenza de différents sous-types, espèce hôte d'origine et niveau de pathogénicité. L'application à d'autres virus respiratoires tels que le VRS ou le MERS-CoV est envisagée selon l'obtention de financements.

Ces travaux devraient permettre une meilleure compréhension des bases moléculaires de la pathogénèse virale et potentiellement conduire à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

(*N. Naffakh, DR2 CNRS ; S. Munier, MCU P7 ; G. Fournier, Post-Doctorant ; C. Diot, Doctorant ; Y. Jacob, CR IP, C. Demeret, CR IP ; P. Cassonnet, IR IP ; J. Zhang, Post-doctorante ; E. Biquand, Doctorante*).

➤ **Potentiel zoonotique des virus influenza D**

Un nouveau type de virus influenza (type D) a été récemment identifié chez les porcins et les bovins. Dans le cadre du projet ANR FLUD (coordinateur M. Ducatez, INRA, Toulouse) dont

l'objectif est une meilleure caractérisation de ce virus et l'évaluation de son potentiel zoonotique, nous établirons le profil de multiplication du virus sur différents types cellulaires, évaluerons sa stabilité selon différentes conditions physicochimiques (température, pH, etc..). De plus, nous rechercherons sa présence chez les patients atteints d'IRA par qRT-PCR ainsi contribuerons à une étude sérologique pour apprécier la prévalence des anticorps contre ce virus dans différents segments de la population (V. Enouf ; S. Behillil).

➤ **Recherche translationnelle ou appliquée en lien étroit avec le CNR**

Comme par le passé les données directement issues de l'activité du CNR ou directement en lien avec l'activité du CNR pourront donner lieu à des études dans les domaines suivants :

Epidémiologie moléculaire

Sur la base des séquences de génomes complets produits par NGS, des analyses phylogénétiques permettront d'analyser l'évolution spatio-temporelle des virus influenza (ou d'autres virus respiratoires) ainsi que la fréquence et la nature des réassortiments au sein de chacun des types ou sous-types/lignages de virus influenza. Une analyse de l'évolution des variants minoritaires est également réalisée en relation avec les données clinico-épidémiologiques et/ou phénotypiques des virus.

Evaluation de caractéristiques génétiques ou phénotypiques particulières

L'identification dans le cadre de la surveillance de mutations en lien avec des caractéristiques phénotypiques d'intérêt (variations de la spécificité pour le récepteur, de la sensibilité aux antiviraux, de la vitalité virale, etc ..) pourra faire l'objet d'analyses spécifiques faisant appel aux outils disponibles dans le cadre de la recherche (génétique inverse, test de transcription/réplication transitoire, interactomique, etc..) afin de comprendre les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les variations observées. Ce type d'approche a été mise en œuvre par le passé (cf par exemple : Medeiros et al. Virology 2001; Medeiros et al. Arch Virol 2004 ; Le Goff et al. PLoS ONE 2012 ; Rameix-Welti et al. PLoS Pathog. 2008 ; Rameix-Welti et al. Antivir. Ther. 2011).

Immunité post-vaccinale et évaluation de nouveaux antiviraux

L'expertise du CNR-IPP et de l'unité est régulièrement mise à profit pour contribuer à des études sérologiques de l'immunité postvaccinale ou pour l'évaluation de nouveaux antiviraux (cf par exemple Rudrawar et al. Nat Commun. 2010 ; Luytjes et al. Vaccine 2012).

Sont actuellement en cours, des études dont l'objectif est d'évaluer l'impact de l'administration préalable de fibres sur la réponse vaccinale - projet FP7-FIBEBIOTICS (Coordinateur J.Mes).

Par ailleurs, en collaboration avec R. Legrand (CEA, Fontenay aux Roses) nous contribuons à la mise en place d'un modèle d'infection chez le macaque dans le but d'analyser de nouvelles formulations ou stratégies vaccinales (V. Enouf; S. Behillil).

6.1.2 CNR-HCL

Les travaux de recherche du CNR-HCL sont réalisés en partie en collaboration avec le laboratoire de recherche VIRPATH EA4610 UCBL-HCL. Les thèmes de recherche abordés au sein de cette Unité sont décrits sur le site internet de l'Unité (www.virpath.com). Le laboratoire a intégré le Centre International de Recherche en infectiologie au 1^{er} janvier 2016 (CIRI, INSERM U1111, CNRS 5308, ENS, UCBL)

Les projets comportent donc à la fois des projets de recherche fondamentale, des projets de recherche appliqués, et des projets de recherche transrationnelle. Différents axes sont développés en collaboration avec le CNR. Ces travaux de recherche sont très intégrés, avec de nombreuses passerelles entre les différents axes. Seuls les axes ayant permis des publications entre 2012 et début 2014 ou ayant été financés à la suite d'appel d'offres (ANR, PHRC) sont présentés.

➤ **Axe1 : Compréhension des mécanismes d'émergence et d'évolution des virus influenza.**

Les virus Influenza peuvent émerger du réservoir animal et s'adapter à l'homme. Cette introduction d'un nouveau virus suppose des mécanismes d'adaptation des virus aviaire à son nouvel hôte. Cette adaptation peut se faire soit par réassortiment génétique (échange de segments de gène), soit par l'accumulation de mutations sur les gènes impliqués dans la restriction d'hôte (en particulier HA, NA, PB1, NS).

Le réassortiment génétique ne peut être compris que si les mécanismes d'assemblage des 8 segments du génome (vRNP) lors du packaging du virus sont compris. Cet assemblage est organisé, permettant in fine d'incorporer un représentant de chaque vRNP dans les particules virales bourgeonnantes. Après avoir décrit par cryotomographie l'organisation des 8 vRNP dans la particule virale, nous avons déterminé des réseaux d'interactions entre les différents segments de gènes, montrant des affinités fortes entre certains segments spécifiques (Fournier et al, NAR 2012, Gavazzi et al, PNAS 2013). Par ailleurs, la description des réseaux d'interactions des vRNP de virus de sous-types différents a montré que ces réseaux sont sous-types dépendants (Gavazzi et al, NAR 2013), ce qui pouvait être un facteur limitant au réassortiment génétique. En effet, nous avons aussi montré que l'absence d'interactions potentielles entre vRNP de virus différents rendait impossible un assemblage hétérologue dans une cellule co-infectée (Essere et al, PNAS 2013). En revanche, par mutagenèse dirigée, nous avons aussi montré que la substitution d'un nombre limité de nucléotides dans les régions impliquées dans l'assemblage du complexe macromoléculaire des vRNP pouvait lever ce frein à l'incorporation de segments d'origine différente dans un fond génétique d'un virus H3N2 (Essere et al, 2013, Isel et al, Vaccine 2013). Nos travaux sur l'assemblage vont continuer, afin de définir pour chaque segment les positions nucléotidiques impliquées dans l'assemblage des vRNP de PR8 et WSN.

Les mutations des virus influenza sont le reflet des quasi-espèces qui constituent l'inoculum infectieux. Au cours de l'infection, une quantité importante de virus est produite avec un taux de mutation élevé. Dès lors, la compréhension des facteurs de risque de développer une infection grave liée à des virus présentant des facteurs de risque identifiés ou suspectés repose sur la détermination précoce de la présence de ces facteurs dans la population des virus responsable des cas sévères. Pour cela, nous avons développé une approche de séquençage à haut débit sur les échantillons biologiques des patients présentant des formes graves, afin de pouvoir mieux prédire l'évolution de la maladie, et d'optimiser la prise en charge du patient (Pichon Etal, Communication orale, ESCV meeting Edinburg sept 2015). De même, l'identification des marqueurs prédictifs précoces de ces infections graves serait aussi utile pour améliorer la survie des patients atteints de formes de grippe sévère. En se basant sur des travaux préliminaires (Berri et al, Cell Mol Life Sci. 2014), et l'utilisation d'outils de NGS maîtrisés par le laboratoire (Josset et al, J Virol 2012, Josset et al, Plos One 2010), et grâce à un financement PHRC (projet antigrippe), nous réalisons une étude prospective sur les marqueurs prédictifs précoces de l'évolution des formes de grippe sévères admises en réanimation.

➤ **Axe2 : Etude de la Balance HA-NA des virus influenza.**

Depuis de nombreuses années, le laboratoire décrit les interactions qui existent entre les deux glycoprotéines de surface en terme de virulence et de pathogenèse (Casalegno et al, Plos One 2014, Ferraris et al, Antivir Res, 2012, Richard et al Plos One 2012, Pourceau et al, Chembiochem. 2011), et le rôle de certaines mutations sur la résistance aux inhibiteurs de la neuraminidase (Ferraris et al, J Clin Virol 2008, Richard et al, AAC 2011, Casalegno et al, Antiviral Res. 2010, Escuret et al JID 2014). Nous avons continué ce travail, notamment en confirmant que les mutations décrites dans les sous-types de virus influenza humains peuvent être transposées aux sous-types aviaires. Pour cela, nous avons construit par

génétique inverse des virus aviaires comportant des neuraminidases dont les séquences avaient été modifiées afin de tester les mutations 275 dans les NA du groupe 1 (en préparation) et les mutations 119 et 292 dans les NA des virus du groupe 2 (Gaymard A et al, Clin Microb Infect, 2016). Par ailleurs, nous allons préparer des systèmes de production de glycoprotéines fonctionnelle solubles afin de pouvoir mieux caractériser à la fois les affinités et les capacités catalytiques des HA et NA.

➤ **Axe3 : Approche transcriptomique *in vitro* et *in vivo* lors de l'infection virale : développement de nouveaux antiviraux et étude de la pathogénèse.**

En lien avec l'analyse des mécanismes de virulence et de pathogénèse décrits ci-dessus, nous avons développé une approche « Omique » pour l'étude de l'impact des virus influenza dans des systèmes *in vitro* et chez l'homme. Cette approche mise au point en 2010 (Joset et al, Plos One 2010) a montré que l'obtention de signatures transcriptomiques détaillées permettait d'identifier des voies cellulaires à cibler par des molécules antivirales. En effet, en perturbant l'état cellulaire favorable à l'infection, il est théoriquement possible de développer des stratégies antivirales ciblant des protéines cellulaires qui auraient pour effet de bloquer la réplication virale et donc l'infection. A l'issue du travail initial, une première molécule a été identifiée et un essai clinique financé par un PHRC a été réalisé entre 2010 et 2014 (FLUMED). Les résultats sont en cours d'analyse. Par ailleurs, lors d'un autre essai (COMBINA), il a été possible de recueillir des échantillons de lavage nasal de personnes infectées par les virus H1N1 et H3N2, et réaliser chez ces patients des profils transcriptomiques lors de l'infection, et après guérison. Ces données, en cours d'exploitation, ouvrent de nouvelles perspectives en termes de molécules potentiellement antivirales qui pourraient être issues d'un repositionnement thérapeutique (Projet Flunext). Enfin, les profils ont aussi montré des voies d'activation de la voie P53 et en particulier de l'interaction entre NS1 et P53 et mdm2 qui pourraient aussi être des cibles antivirales (Terrier et al, FEBS Lett. 2013, Terrier et al, Virol J 2011).

➤ **Axe4 : Etude du rôle de co-infections virus bactéries.**

Lors de la surinfection bactérienne, les mécanismes de coopération entre les virus et les bactéries sont connus, mais parfois que de façon purement descriptive. En collaboration avec l'équipe du CNR des Staphylocoques (F Vandensech et G Lina), un programme sur les co-infections grippe-staphylocoque a été initié en 2011 à la suite d'une étude rétrospective (Casalegno et al, Med Mal Inf 2011, Lamand V, Clin Microbiol Infect. 2012). Dans un premier temps, il a été testé la possibilité d'une coopération entre les toxines PVL et les virus de la grippe. Le travail est encore en cours et les résultats préliminaires montrent que le virus potentialise l'effet délétère de la PVL sur les polynucléaires humains (Casalegno et al, RICA 2013, et Lett Appl Microbiol. 2015, Jeannoel M et al, Communication ESCV Edinburg sept 2015, article soumis). Dans l'unité Virpath, les coopérations grippe et pneumocoque sont aussi étudiées, notamment grâce à l'utilisation des systèmes de culture basés sur des épithéliums reconstruits (Hoffmann et al, Sci Rep. 2016).

➤ **Axe5 : support du CNR aux enquêtes.**

Le CNR est aussi impliqué dans la réalisation de travaux sur l'estimation de l'efficacité vaccinale mesurée à posteriori (Amour et al, Vaccine 2012), ou en temps réel (Fluvac, Loubet et al, J Clin Virol. 2016), et l'impact des couvertures vaccinales sur la prévention de la grippe dans les services hospitaliers (Benet et al, BMC Infect Dis. 2012). Il participe aussi à des enquêtes sur les grippes nosocomiales à l'hôpital, et conjointement avec l'équipe d'hygiène hospitalière, il a analysé la diffusion d'un virus influenza dans une unité de soins (Eibach et al, J Hosp Infect 2014, Munier-Marion E et al, Clin Microbiol Infect. 2016). En parallèle, un travail a été mené combinant le recueil des contacts entre individus par le biais de badges à haute fréquence portés par le personnel et les patients pendant 2 semaines dans une unité de gériatrie (Stele J, PLoS One. 2011 ; Voirin N, et al, Infect Control Hosp Epidemiol 2015). L'analyse des contacts et des cas observés va être réalisée, montrant le rôle important des infirmiers dans le risque de dissémination nosocomiale des virus influenza.

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

6.2.1 Publications nationales

Lina B. Grippe : le point en 2015. La Revue du Praticien – Médecine Générale, 2015

Bouscambert M, Vanhecke E, Worms B, Valette M, Lina B. Evaluation des performances des 22 tests rapides d'orientation diagnostique de la grippe A et B en France en 2014. Les Feuilles de Biologie, mai 2015, n° 324, 13-18

Lina B. Vaccination contre la grippe : état des lieux en 2015. Les Entretiens de Bichat, 10 octobre 2015.

Émilie Mosnier, Luisiane Carvalho, Aba Mahamat, Jean-Loup Chappert, Martine Ledrans, Muriel Ville, Mireille Renaud, Pierre Chesneau, Dominique Rousset, Jacques Rosine, Vincent Pommier de Santi, Mathieu Nacher, Magalie Demar, Philippe Abboud, Pierre Couppié, Félix Djossou. Épidémies multiples dans des camps d'orpaillage en forêt amazonienne (Guyane française) en 2013: quelles leçons pour l'accès aux soins et à la prévention ? *BEH*, 2015 ; 11-12: 181-189.

S. van der Werf, Virus De La Grippe, *REMIC: Société Française de Microbiologie Ed; Avril 2015; ch87; p663-668* (2015).

Equipes de surveillance virologique de la grippe* Surveillance de la grippe en France Métropolitaine, Saison 2014-2015 *BEH*, 2015 ; 32-33 : 593-598.

Centre national de référence des virus influenzae* Surveillance virologique de la grippe : Saison 2014-2015. *BEH*, 2015, 32-33, 599-603.

Equipes de surveillance virologique de la grippe* Surveillance de la grippe en France Métropolitaine, Saison 2015-2016 *BEH*, 2016 ; 32-33 : 558-563.

Campèse C, Silué Y, Lina B, Bonmarin I, Chappert JL, van der Werf S, Lévy-Bruhl D *Middle East Respiratory Coronavirus* (MERS-CoV). Bilan des signalements en France d'octobre 2012 à décembre 2015. *BEH*, 2016 ; 32-33 : 572-578

Lina B Grippe, Encyclopédie Médico Chirurgicale, 2016 ; [4-1200] - Doi : 10.1016/S1634-6939(16)74412-7

Loubet P, Samih-Lenzi N, Galtier F, Vanhems P, Loulergue P, Duval X, Lesieur Z, Lina B, Carrat F, Launay O. RESPIR-08 - Facteurs associés à la gravité d'une grippe confirmée chez des adultes hospitalisés en France de 2012 à 2015 : une étude prospective multicentrique. *Med Mal Infect.* 2016;46(4 Suppl 1):98.

Poissy J, Terrier O, Lina B, Textoris J, Rosa-Calatrava M. La modulation de la signature transcriptomique de l'hôte infecté : une nouvelle stratégie thérapeutique dans les viroses graves ? Exemple de la grippe. *Réanimation*, 2016 ; 25:S53–S61

Le Briand N, Casalegno JS, Escuret V, Gaymard A, Lina B, Ottmann M, Frobert E. La balance HA-NA des virus influenza A(H1N1), *Virologie*, 2016, 20 (1):47-60.

Lina B. La sécurisation du laboratoire BSL3. Les cahiers de la Fonction Publique, 2016 ; 362 : 77.

Lina B. Vers un vaccin antigrippal universel ? La revue du Praticien, 2016 ; 66 : 1-3

6.2.2 Publications internationales

Tjon-Kon-Fat R, Meerhoff T, Nikisins S, Pires J, Pereyaslov D, Gross D, Brown C, WHO European Region Influenza Network. The potential risks and impact of the start of the 2015–2016 influenza season in the WHO European Region: a rapid risk assessment. *ISIRV* (2016) DOI:10.1111/irv.12381

Diot C, Fournier G, Dos Santos M, Magnus J, Komarova A, van der Werf S, Munier S, Naffakh N. [Influenza A Virus Polymerase Recruits the RNA Helicase DDX19 to Promote the Nuclear Export of Viral mRNAs](#). *Sci Rep*. 2016 Sep 22;6:33763. doi: 10.1038/srep33763

Minodier, L., R. N. Charrel, P. E. Ceccaldi, S. van der Werf, T. Blanchon, T. Hanslik and A. Falchi. Prevalence of Gastrointestinal Symptoms in Patients with Influenza, Clinical Significance, and Pathophysiology of Human Influenza Viruses in Faecal Samples: What Do We Know? *Viro J* 12, no. 1 (2015): 215.

Mosnier A, Caini S, Daviaud I, Bensoussan JL, Stoll-Keller F, Bui Tan T, Lina B, van der Werf S, Cohen JM and behalf of the GROG network. Ten influenza seasons in France: distribution and timing of influenza A and B circulation, 2003-2013. *BMC Infectious Diseases*, 2015, 15:357

Mosnier A, Caini S, Daviaud I, Nauleau E, Bui TT, Debost E, Bedouret B, Agius G, van der Werf S, Lina B, Cohen JM; GROG network. [Clinical Characteristics Are Similar across Type A and B Influenza Virus Infections](#). *PLoS One*. 2015 Sep 1;10(9):e0136186. doi: 10.1371/journal.pone.0136186. eCollection 2015. PMID:26325069

S. van der Werf, and D. Levy-Bruhl, 'Influenza - the Need to Stay Ahead of the Virus', *Euro Surveill*, 20 (2015), 21030.

J. Beaute, P. Zucs, N. Korsun, K. Bragstad, V. Enouf, A. Kossyvakis, A. Griskevicius, C. M. Olinger, A. Meijer, R. Guimar, K. Prosenc, E. Staronova, C. Delgado, M. Brytting, and E. Broberg, 'Age-Specific Differences in Influenza Virus Type and Subtype Distribution in the 2012/2013 Season in 12 European Countries', *Epidemiol Infect* (2015), 1-9.

E. Broberg, R. Snacken, C. Adlhoch, J. Beaute, M. Galinska, D. Pereyaslov, C. Brown, P. Penttinen, W. H. O. European Region, and Network the European Influenza Surveillance, 'Start of the 2014/15 Influenza Season in Europe: Drifted Influenza A(H3N2) Viruses Circulate as Dominant Subtype', *Euro Surveill*, 20 (2015).

O. Munoz, M. De Nardi, K. van der Meulen, K. van Reeth, M. Koopmans, K. Harris, S. von Dobschuetz, G. Freidl, A. Meijer, A. Breed, A. Hill, R. Kosmider, J. Banks, K. D. Stark, B. Wieland, K. Stevens, S. van der Werf, V. Enouf, G. Dauphin, W. Dundon, G. Cattoli, and I. Capua, 'Genetic Adaptation of Influenza a Viruses in Domestic Animals and Their Potential Role in Interspecies Transmission: A Literature Review', *Ecohealth* (2015).

Bouscambert M, Valette M, Lina B. Rapid bedside tests for diagnosis, management and prevention of nosocomial influenza. *Journal of Hospital Infection*, 2015

Lê VB, Schneider JG, Boergeling Y, Berri F, Ducatez M, Guerin JL, Adrian I, Errazuriz-Cerda E, Frاسquilho S, Antunes L, Lina B, Bordet JC, Jandrot-Perrus M, Ludwig S, Riteau B. Platelet Activation and Aggregation Promote Lung Inflammation and Influenza Virus Pathogenesis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015

Voirin N, Payet C, Barrat A, Cattuto C, Khanafer N, Régis C, Kim BA, Comte B, Casalegno JS, Lina B, Vanhems P. Combining high-resolution contact data with virological data to investigate influenza transmission in a tertiary care hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2015 Mar;36(3):254-60.

Rondy M, Launay O, Puig-Barberà J, Gefenaite G, Castilla J, de Gaetano Donati K, Galtier F, Hak E, Guevara M, Costanzo S; European hospital IVE network, Moren A. 2012/13 influenza vaccine effectiveness against hospitalised influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B: estimates from a European network of hospitals. *Euro Surveill*. 2015 Jan 15;20(2). pii: 21011

Nguyen Van JC, Caméléna F, Dahoun M, Pilmis B, Mizrahi A, Lourtet J, Behillil S, Enouf V, Le Monnier A. Prospective evaluation of the Alere i Influenza A&B nucleic acid amplification versus Xpert Flu/RSV. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016 May;85(1):19-22. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.012.

Cohen JM, Silva ML, Caini S, Ciblak M, Mosnier A, Daviaud I, Matias G, Badur S, Valette M, Enouf V, Paget J, Fleming DM; IBGP study team. Striking Similarities in the Presentation and Duration of Illness of Influenza A and B in the Community: A Study Based on Sentinel Surveillance Networks in France and Turkey, 2010-2012. *PLoS One*. 2015 Oct 1;10(10):e0139431. doi: 10.1371/journal.pone.0139431.

Ampofo WK, Azziz-Baumgartner E, Bashir U, Cox NJ, Fasce R, Giovanni M, Grohmann G, Huang S, Katz J, Mironenko A, Mokhtari-Azad T, Sasano PM, Rahman M, Sawanpanyalert P, Siqueira M, Waddell AL, Waiboci L, Wood J, Zhang W, Ziegler T; WHO Writing Group. Strengthening the influenza vaccine virus selection and development process: Report of the 3rd WHO Informal Consultation for Improving Influenza Vaccine Virus Selection held at WHO headquarters, Geneva, Switzerland, 1-3 April 2014. *Vaccine*. 2015 Aug 26;33(36):4368-82. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.06.090.

Souty C, Blanchon T, Bonmarin I, Lévy-Bruhl D, Behillil S, Enouf V, Valette M, Bouscambert M, Turbelin C, Capai L, Roussel V, Hanslik T, Falchi A. Early estimates of 2014/15 seasonal influenza vaccine effectiveness in preventing influenza-like illness in general practice using the screening method in France. *Hum Vaccin Immunother*. 2015;11(7):1621-5. doi: 10.1080/21645515.2015.1046661.

Loubet P, Lenzi N, Valette M, Foulongne V, Krivine A, Houhou N, Lagathu G, Rogez S, Alain S, Duval X, Galtier F, Postil D, Tattevin P, Vanhems P, Carrat F, Lina B, Launay O; FLUVAC Study Group. Clinical Characteristics and Outcome of Respiratory Syncytial Virus Infection among Adults Hospitalized with Influenza-like Illness in France. *Clin Microbiol Infect*. 2016 Nov 26. In press

Brinza L, Djebali S, Tomkowiak M, Mafille J, Loiseau C, Jouve PE, de Bernard S, Buffat L, Lina B, Ottmann M, Rosa-Calatrava M, Schicklin S, Bonnefoy N, Lauvau G, Grau M, Wencker M, Arpin C, Walzer T, Leverrier Y, Marvel J. Immune signatures of protective spleen memory CD8 T cells. *Sci Rep*. 2016 Nov 24;6:37651

Filleul L, Ranoaritiana DB, Balleydier E, Vandroux D, Ferlay C, Jaffar-Bandjee MC, Jaubert J, Roquebert B, Lina B, Valette M, Hubert B, Larrieu S, Brottet E. A major impact of the influenza seasonal epidemic on intensive care units, Réunion, April to August 2016. *Euro Surveill*. 2016 Nov 24;21(47). pii: 30405.

Gaymard A, Charles-Dufant A, Sabatier M, Cortay JC, Frobert E, Picard C, Casalegno JS, Rosa-Calatrava M, Ferraris O, Valette M, Ottmann M, Lina B, Escuret V. Impact on antiviral resistance of E119V, I222L and R292K substitutions in influenza A viruses bearing a group-2 neuraminidase (N3, N6, N7, N9). *J Antimicrob Chemother*. 2016 Nov;71(11):3036-3045

Gaymard A, Le Briand N, Frobert E, Lina B, Escuret V. Functional Balance between Neuraminidase and Hemagglutinin in influenza viruses. Clin Microbiol Infect. 2016 Dec;22(12):975-983

Terrier O, Carron C, De Chaasey B, Dubois J, Traversier A, Julien T, Proust A, Hacot S, Resskinoff D, Lotteau V, Lina B, Diaz JJ, Moules V, Rosa-Calatrava M, Nucleolin interacts with influenza A ribonucleoprotein complexes and contributes to their nuclear trafficking and efficient influenza viral replication. Sci Rep. 2016 Jul 4;6:29006.

Roussel M, Pontier D, Cohen JM, Lina B, Fouchet D. Quantifying the role of weather on seasonal influenza. BMC Public Health, 2016 May 26;16:441

Vanhems P, Baghdadi Y, Roche S, Bénét T, Régis C, Lina B, Robert O, Voirin N, Ecochard R, Amour S. Influenza vaccine effectiveness among healthcare workers in comparison to hospitalized patients: A 2004-2009 case-test, negative-control, prospective study. Hum Vaccin Immunother. 2016 Feb;12(2):485-90.

Munier E, Bénét T, Régis C, Lina B, Morfin F, Vanhems P. Hospitalisation in double-occupancy rooms and the risk of hospital-acquired influenza: a prospective cohort study. Clin Microbiol Infect. 2016 May;22(5):461.e7-9.

Loubet P, Samih-Lenzi N, Galtier F, Vanhems P, Loulergue P, Duval X, Jouneau S, Postil D, Rogez S, Valette M, Merle C, Régis C, Costa Y, Lesieur Z, Tattevin P, Lina B, Carrat F, Launay O; FLUVAC Study Group. Factors associated with poor outcomes among adults hospitalized for influenza in France: A three-year prospective multicenter study. J Clin Virol. 2016;79:68-73.

Vanhems P, Voirin N, Bénét T, Roche S, Escuret V, Régis C, Giard M, Lina B, Comte B, Coppéré B, Ecochard R, and collaborative clinical units. Detection of hospital outbreaks of influenza-like illness based on excess of incidence rates compared to the community. Am J Infect Control. 2014 Dec;42(12):1325-7

Broberg E, Snacken R, Adlhoch C, Beauté J, Galinska M, Pereyaslov D, Brown C, Penttinen P, on behalf of the WHO European Region and the EU/EEA member States Influenza Surveillance Focal Points. Start of the 2014/2015 influenza season in Europe: drifted A(H3N2) viruses circulate as dominant subtype.. Euro Surveill. 2015 Jan 29;20(4).

Cardot-Martin E, Casalegno JS, Badiou C, Dauwalder O, Keller D, Prévost G, Rieg S, Kern WV, Cuerq C, Etienne J, Vandenesch F, Lina G, Dumitrescu O. α -Defensins partially protect human neutrophils against Pantón-Valentine leukocidin produced by Staphylococcus aureus. Lett Appl Microbiol. 2015 Aug;61(2):158-64.

6.2.3 Communications nationales

Diot C, Guillaume Fournier, Mélanie Dos Santos, Julie Magnus, Anastasia Komarova, Sylvie van der Werf, Sandie Munier, Nadia Naffakh. Interaction des virus influenza A avec les ARN hélicases à boîte DExD : étude systématique et mise en évidence d'un rôle majeur de DDX19 dans l'export nucléaire des ARNm viraux. XVIIIèmes Journées Francophones de Virologie, Institut Pasteur, Paris, 23-24 mars 2016.

Crescenzo-Chaigne B., Cyril Barbezange, Stéphane Léandri, Camille Roquin, Camille Berthault, Sylvie van der Werf. Les extrémités non codantes des segments

grippaux sont-elles interchangeables ? Etude sur le segment NA. XVIIIèmes Journées Francophones de Virologie, Institut Pasteur, Paris, 23-24 mars 2016.

A Enfissi, M Petit-Sinturel, L Carvalho, V Ardillon, S Matheus, L Bremand, D Moua, M Ledrans, D Rousset. Comparaison des épidémies grippales en Guyane et en France métropolitaine - 4emes Journées Interrégionales de Veille Sanitaire (JIRVS) des Antilles-Guyane. Schoelcher, Martinique 5-7 nov 2015.

6.2.4 Communications Internationales

van der Werf S. Presentation of PREDEMICS. 3rd Global Risk Forum, One Health Summit, Davos, Switzerland, 4-7 October 2015.

van der Werf S, C. Barbezange, S. Léandri, C. Roquin, C. Berthault, B. Crescenzo-Chaigne. Incorporation of the influenza A virus NA segment does not require homologous non-coding sequences. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, USA, 24-28 August 2016

van der Werf S, C. Barbezange, S. Léandri, C. Roquin, C. Berthault, B. Crescenzo-Chaigne. Incorporation of the influenza A virus NA segment does not require homologous non-coding sequences. 6th European Congress of Virology. Hamburg, Germany, 19-22 October 2016

Declercq M., Hervé Blanc, Marco Vignuzzi, Sylvie van der Werf, Cyril Barbezange. Is replication fidelity of influenza A viruses modulated by a proofreading activity? 6th European Congress of Virology. Hamburg, Germany, 19-22 October 2016

Lina B. Boucher C, Osterhaus A, Schutten M, Monto A, Whitley RJ, Nguyen-Van-Tam J Six years of monitoring emergent oseltamivir resistance in patients with influenza A virus infections in the Influenza Resistance Information Study (IRIS). 4th isirv Antiviral Group Conference, Austin, USA, Juin 2015.

6.2.5 Communications Nationales sur invitation

van der Werf S. Diagnostic clinique de la grippe. Journées de Biologie Clinique, Institut Pasteur, Paris, 19 janvier 2016.

Lina B. Evolution des virus H3N2 et échecs de la vaccination. Communication orale sur invitation, RICAI, Paris, Décembre 2015

van der Werf S. Evolution of Influenza A viruses: search for determinants that modulate mutation rate and segment incorporation into virions. Lab seminars, Department of Virology, Institut Pasteur, Paris, 5 october 2016.

Lina B. Virus de la grippe : variation des souches et nouveaux vaccins, Académie de Médecine, Paris, Avril 2015

Enouf V., La saison grippale 2014/2015. XVIIIèmes Journées Francophones de Virologie, Institut Pasteur, Paris, 23-24 mars 2016.

Lina B. invitation à la table ronde Vaccination, 2èmes assises nationales du vaccin - Institut Choiseul, Institut Pasteur, Paris Mars 2015

Lina B. Emergences virales et risques épidémiques, Journée Enseignement Recherche "FormaSciences 2015", 26 février 2015, Lyon

Antoine Enfissi : « Missions du CNR des virus influenzae et données en lien avec la circulation des virus influenza et VRS en Guyane » – Réunion ARAVEG (Association pour le Réseau d'Accès aux Soins de Veille sanitaire et Epidémiologique de la Guyane)- 24 Mars 2015

6.2.6 Communications Internationales sur invitation et présidence de sessions

Lina B. Molecular diagnostic of respiratory viruses. Communication orale sur invitation, Symposium SEEGENE ECCMID, Amsterdam, 10 avril 2016,

Lina B. Emerging influenza Viruses, Communication orale sur invitation, ISHEID, Marseille, 27 mai 2016

Lina B. Future Vaccine workshop. Table ronde sur invitation, BioVision, Lyon, 12-14 avril 2016

Lina B. Bases Immunologiques de la Vaccination. Communication orale sur invitation, IXe Journée Internationale d'Infectiologie de Sertif, Setif, 29 mai 2016

Lina B. Actualités sur la vaccination antigrippale. Communication orale sur invitation, IXe Journée Internationale d'Infectiologie de Sertif, Setif, 29 mai 2016

Lina B. Viral respiratory infections. 18th ESCV meeting, Edinburg, Septembre 2015

Lina B. Influenza transmission among HCWs and patients. GII 2015 Global Roundtable meeting, Hong Kong, Juillet 2015

Lina B. Limits of VE studies in previously immunized patients. GII 2015 Global Roundtable meeting, Hong Kong, Juillet 2015

Lina B. The discrepant perception of influenza between community and hospital. Annual Influenza Meeting, ECDC, Stockholm Juin 2015

Lina B. Emergences virales, risques épidémiques et pandémiques. Journée Médicale de Guinée, Conakry (Guinée), Mai 2015

Lina B. Connecting the actors of innovation in vaccinology. Invitation pour participer a la table ronde Biovision, Lyon, Avril 2015

Lina B. Nosocomial flu: Resistant strains and utility of rapid tests at bedside for diagnostic, management and prevention. HIS 2014, 16-18 novembre 2014 Lyon, France

van der Werf S. PREDEMICS Ebola activities. Coordinators Meeting Ebola Project, 19 January 2015, Brussels, Belgium. (2015).

van der Werf S. Chair session Emerging infectious diseases: a continuous global threat. EU-CIS ISTC Meeting on Emerging and Reemerging Infectious Diseases. 14-15 september 2015, Les Pensières, Veyrier du Lac, France

van der Werf S. Short overview of IP's international influenza activities with relevance to GAP. 10th Meeting of the WHO Global Action Plan (GAP) Advisory Group (AG) for Influenza Vaccines (Closed Session), 19 March 2015, Sao Paulo, Brazil. (2015).

van der Werf S. Chair session « Inhibitors of virion attachment/Fusion proteins ». 4th Isirv - AVG Conference. Novel Antiviral Therapies for Influenza and other Respiratory Viruses: Bench to Bedside, 02-04 June 2015, Austin, Texas, U.S.A. (2015).

van der Werf S. Chair session « Significance and communication of information » Workshop on Next Generation Sequencing of Viruses, ISIRV AVG-GISAID-PREDEMICS meeting, 20-21 May 2015, Institut Pasteur, Paris

van der Werf S. Impact of influenza : insights from routine virological surveillance. ISIRV Meeting « Incidence, Severity, Impact of influenza », 21-22 January 2016, Institut Pasteur, Paris

van der Werf S. Outline of PREDEMICS. ECV satellite symposium « Emerging Zoonoses », 6th European Congress of Virology. Hamburg, Germany, 22 October 2016

Enouf V. Flu Viruses. Surveillance and diagnostics. PCR WG Meeting - WHO, 22-24 June 2015, Geneva, Switzerland. (2015).

6.2.7 Comité scientifique ou d'organisation de congrès ou colloques

- Rencontres sur la grippe, GEIG, Novembre 2015 (B. Lina, S. van der Werf)
- Workshop on Next Generation Sequencing of Viruses, ISIRV AVG-GISAID-PREDEMICS meeting, 20-21 May 2015, Institut Pasteur, Paris (S. van der Werf, co-organizer)
- 4th Isirv - AVG Conference. Novel Antiviral Therapies for Influenza and other Respiratory Viruses: Bench to Bedside, 02-04 June 2015, Austin, Texas, U.S.A. (S. van der Werf, membre du comité scientifique)
- PREDEMICS-ANTIGONE workshop, 25 November 2015, Rotterdam, The Netherlands (S. van der Werf, co-organizer)
- PREDEMICS Training Workshop « Integrated knowledge on Preparedness, Prediction and Prevention of Emerging Zoonotic Viruses with Pandemic Potential ». 19-22 September 2016. Institut Pasteur, Paris, France (S. van der Werf, co-organizer)
- ECV satellite symposium « Emerging Zoonoses », 6th European Congress of Virology. Hamburg, Germany, 22 October 2016 (S. van der Werf, co-organizer)
- IMMEX-XI, ESCMID-ESGEM 11th international Meeting on Microbial Epidemiological Markers navigation microbial genomes : insights from next generation, Estoril, Portugal, March 9-12 2016 (S. van der Werf, member of scientific committee).

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale

En raison de l'absence de suspicions d'infection par les virus de grippe aviaire H7N9 et de la diminution du nombre de cas en Chine, aucune coopération n'a semblé nécessaire.

8 Programme d'activité pour les années 2016-2017 et 2017-2018

Les deux laboratoires CNR-IPP et CNR-HCL poursuivront leur contribution à la mise en place du nouveau protocole de surveillance en lien avec l'InVS/SPFrance et les responsables du Réseau Sentinelles.

Au plan des techniques et stratégies d'analyses des prélèvements et souches virales, 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 modalités de recueil des données notamment issues du réseau RENAL sera poursuivie, ainsi que les échanges de protocoles.

➤ **Détection virale**

L'harmonisation des techniques moléculaires est déjà largement en place entre les trois laboratoires du CNR.

Le CNR poursuivra le développement autant que de besoin des qRT-PCR pour l'ensemble des sous-type de virus influenza zoonotiques susceptibles d'infecter l'homme (ex : H10N8, H6N1, H5N8 etc..). Comme par le passé, 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, une sélection de prélèvements continuera d'être adressée au CNR-IPP en vue de la caractérisation antigénique. Cette détermination sera réalisée sur 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). Avec la restructuration du laboratoire de virologie, le CNR-IPG va pouvoir relancer les activités de culture cellulaire pour l'isolement des influenza virus et prévoit, courant 2017, la mise en place de l'isolement des VRS.

Comme précédemment, une attention particulière sera portée aux virus A(H3N2) dont les évolutions récentes en termes d'affinité pour le récepteur ainsi que pour certains d'entre eux la capacité d'attachement au récepteur via leur neuraminidase et non pas seulement via leur hémagglutinine rendent difficile leur détection par test d'hémagglutination lors de l'isolement ainsi que leur caractérisation antigénique par test d'IHA. Des stratégies alternatives (isolement en cellules SIAT; détection de l'isolement par qRT-PCR ou ELISA; tests IHA en présence d'oseltamivir; microneutralisation) seront mises en œuvre autant que nécessaire pour pallier ces difficultés.

➤ **Caractérisation génétique des virus influenza**

La caractérisation génétique des virus sera poursuivie en privilégiant le séquençage direct à partir des prélèvements. Comme précédemment, le séquençage portera en priorité sur les gènes HA (cible principale des anticorps neutralisants et porteur de déterminants de tropisme et de virulence), NA (cible des anticorps et cible des antiviraux inhibiteurs de la NA), M2 (cible des antiviraux amantadine et rimantadine), NS (déterminant de

pathogénicité). 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, selon les moyens disponibles, l'utilisation des nouvelles techniques de séquençage (NGS) pour l'analyse de la diversité des populations virales sera poursuivie afin d'évaluer son apport dans le suivi de l'évolution virale avec pour objectif sa mise en œuvre en routine dans le cadre de la surveillance ou l'investigation de foyers épidémiques.

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'hémoagglutination 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**

Dans le cadre de la collaboration avec le réseau Sentinelles, les laboratoires CNR-IPP et CNR-HCL poursuivront l'adaptation de leurs bases de données, systèmes d'extraction et circuits de communication de données. Comme pour les saisons précédentes, afin de s'assurer d'un apport suffisant de prélèvements en temps réel indispensable pour le suivi en temps réel des évolutions génétiques et antigéniques des virus circulant et la détection précoce de nouveaux virus ou variants, les laboratoires CNR-IPP et CNR-HCL prendront en charge les prélèvements pour l'ensemble des régions en métropole à l'exception de la Corse.

Le CNR continuera à assurer, la collecte, et l'analyse de l'ensemble des données virologiques issues du réseau Sentinelles ainsi que leur transmission à l'ECDC et l'OMS.

Un effort particulier sera poursuivi afin de pallier une diminution attendue du nombre de prélèvements issus de la communauté. Les laboratoires CNR-IPP et -HCL poursuivront les efforts en direction des laboratoires hospitaliers du réseau RENAL afin d'assurer la qualité du recueil des données virologiques, notamment afin de permettre leur inclusion dans les analyses régionales en temps réel. Comme précédemment, ils veilleront tout particulièrement à se procurer les prélèvements ou souches virales détectées comme positives pour les virus grippaux avant et après la période de circulation épidémique, c'est à dire à un moment où la surveillance communautaire est moins sensible du fait de l'utilisation d'une définition de cas nettement plus restrictive que précédemment. Les efforts seront également poursuivis pour améliorer le recueil des données cliniques associées aux prélèvements ou souches en provenance des hôpitaux ainsi que pour les données de sous-typage des virus A(H3N2).

Par ailleurs, l'adaptation des outils informatiques de recueil de données microbiologiques et sérologiques auprès des correspondants du réseau RENAL par Internet (logiciel Voozanoo développé par Epiconcept) sera poursuivie afin de prendre en compte les évolutions de la nouvelle configuration du système de surveillance. Le système de recueil unique pour l'ensemble des laboratoires participants continuera de servir 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/SPFrance et la DGS avec les différents acteurs impliqués dans la surveillance de la grippe pour l'optimisation du réseau de surveillance et plus généralement du système de surveillance de la grippe et des autres virus respiratoires.

Pour la Guyane, le CNR IPG en lien avec les CIRE Antilles et Guyane s'impliquera dans la réactivation des systèmes de surveillance de la grippe fin 2016.

➤ **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.

A noter que le laboratoire de virologie des HCL qui héberge le labo du CNR à Lyon a eu une inspection COFRAC les 13, 14 et 15 Décembre 2016. Cette inspection a permis une accréditation partielle du laboratoire de Virologie.

Annexes

2016

**Centre national de
référence des virus
influenzae**

**Saison
2015-2016**

Sommaire

ANNEXE 1 : MISSIONS ET OBJECTIFS	4
ANNEXE 2 : EQUIPES ET ORGANIGRAMMES.....	6
ANNEXE 3 : PLANS DES LOCAUX.....	9
ANNEXE 4 : LISTE DES PRINCIPAUX EQUIPEMENTS.....	12
ANNEXE 5 : CAPACITES TECHNIQUES DU CNR	15
1.1 Techniques de détection	15
1.1.1 Techniques de (RT-)PCR en temps réel (q(RT-)PCR)	15
1.1.2 Autres techniques de détection	17
1.2 Techniques d'isolement	17
1.3 Techniques d'identification	17
1.4 Caractérisation génétique des virus influenza.....	17
1.4.1 Techniques de détection de polymorphismes génétiques.....	17
1.4.2 Techniques de séquençage	17
1.5 Techniques sérologiques	18
1.6 Caractérisation phénotypique des virus grippaux.....	18
Annexe 6 : PLATEFORME DE MICROBIOLOGIE MUTUALISEE (P2M).....	19
ANNEXE 7 : DESCRIPTION DES COLLECTIONS.....	20
ANNEXE 8 : LISTE DES LABORATOIRES	23
ANNEXE 9 : TECHNIQUES DIVERSES	25
ANNEXE 10 : ANALYSE PHYLOGENETIQUE DES SEQUENCES NUCLEOTIDIQUES DES GENES HA ET NA DES VIRUS DE TYPE A ET B	26

ANNEXE 1 : MISSIONS ET OBJECTIFS

Dans le cadre de leur mission de santé publique, les trois laboratoires du CNR participent à la surveillance virologique de la circulation des virus grippaux et autres virus respiratoires responsables d'Infections Respiratoires Aigües (IRA) en France dans la population et en milieu hospitalier. Ils assurent également le suivi en termes d'ampleur et d'impact des épidémies de grippe saisonnière ou liées à d'autres virus respiratoires tels que le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) ou les rhinovirus. La détection des premiers virus grippaux en métropole permet de donner l'alerte auprès des autorités de santé (InVS et DGS).

Cela ne s'applique pas à la Guyane où existe une circulation annuelle de virus grippaux.

Les laboratoires du CNR ont également pour mission d'assurer l'identification et la caractérisation antigénique et génétique des virus grippaux responsables des épidémies annuelles afin notamment d'évaluer l'adéquation de la composition vaccinale avec les virus grippaux circulants ainsi que d'apprécier l'évolution de la résistance naturelle ou acquise post traitement aux antiviraux.

Par ailleurs, dans le contexte de risque pandémique lié à la survenue de cas d'infection zoonotique tels que l'infection par des virus grippaux aviaires A(H5N1), A(H7N9) ou porcins A(H3N2)v, les laboratoires du CNR effectuent l'analyse virologique des prélèvements en cas de suspicion de grippe zoonotique. Le cas échéant, en cas de diagnostic positif de virus de grippe zoonotique, ils ont en charge d'en réaliser l'isolement et de caractériser la souche virale en cause.

Les laboratoires du CNR effectuent également l'analyse virologique des prélèvements en cas de suspicion de virus respiratoire émergent tel que le MERS-CoV et, le cas échéant en cas de diagnostic positif, de réaliser l'isolement et de caractériser la souche virale.

En pratique, l'activité de surveillance est répartie géographiquement sur le territoire. Elle est prise en charge en métropole par :

l'Unité de Génétique Moléculaire des Virus à ARN – Institut Pasteur – Paris (laboratoire coordonateur du CNR) pour la région Nord (CNR-IP);

le Laboratoire de Virologie Est - HCL Lyon (laboratoire associé) en région Sud (CNR-HCL);

le laboratoire de Virologie de l'Institut Pasteur de la Guyane (laboratoire associé) en région Antilles Guyane (CNR-IPG).

Le Centre national de référence des virus influenzae et ses laboratoires associés s'engagent à assurer les missions définies par l'arrêté du 29 novembre 2004 notifiant les modalités de désignation et les missions des CNR

1. Apporter une expertise microbiologique

Caractériser les souches de grippe isolées en Métropole et dans les DOM (*sous-typage, caractéristiques antigéniques, analyses génétiques*)

Développer et diffuser les techniques de diagnostic et d'identification des virus influenzae

Contribuer à l'identification et à la surveillance des souches résistantes aux antiviraux

Etudier l'adéquation de la composition du vaccin contre la grippe au regard des souches virales circulantes

Analyser et sélectionner les souches de grippe les plus pertinentes pour les envoyer vers les centres mondiaux de référence dans le cadre de la collaboration avec les centres de référence de l'OMS

Maintenir une expertise sur le coronavirus responsable du SRAS et les autres virus respiratoires

2. Contribuer à la surveillance épidémiologique en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire

Contribuer à la surveillance virologique de la grippe (détection des virus circulants sur le territoire et évolution hebdomadaire du nombre et des caractéristiques des souches circulantes) en lien avec les structures concernées (réseaux de médecins, d'établissements hospitaliers) et en lien avec les CIRE concernées pour les DOM

Contribuer au réseau européen de surveillance en diffusant les données virologiques sur les virus grippaux recueillis en France

Mettre en place une surveillance virologique adaptée en cas de menace pandémique et développer les outils de diagnostic adaptés (PCR, tests sérologiques.)

Contribuer à la surveillance microbiologique et épidémiologique des autres agents pathogènes responsables de syndromes grippaux en métropole et dans les DOM

Contribuer à la surveillance des souches grippales chez l'animal, en particulier aviaires et collaborer avec des laboratoires experts dans le domaine de la surveillance animale

Contribuer à la mise en place de la surveillance unifiée régionalisée de la grippe

3. Contribuer à l'alerte en signalant à l'Institut de Veille Sanitaire tout évènement inhabituel

Mutation, émergence d'une nouvelle souche, apparition de résistance aux antiviraux, formes cliniques inhabituelles

4. Expertise et conseil

Apporter son expertise aux autorités de santé dans le domaine de la prévention et du contrôle de la grippe

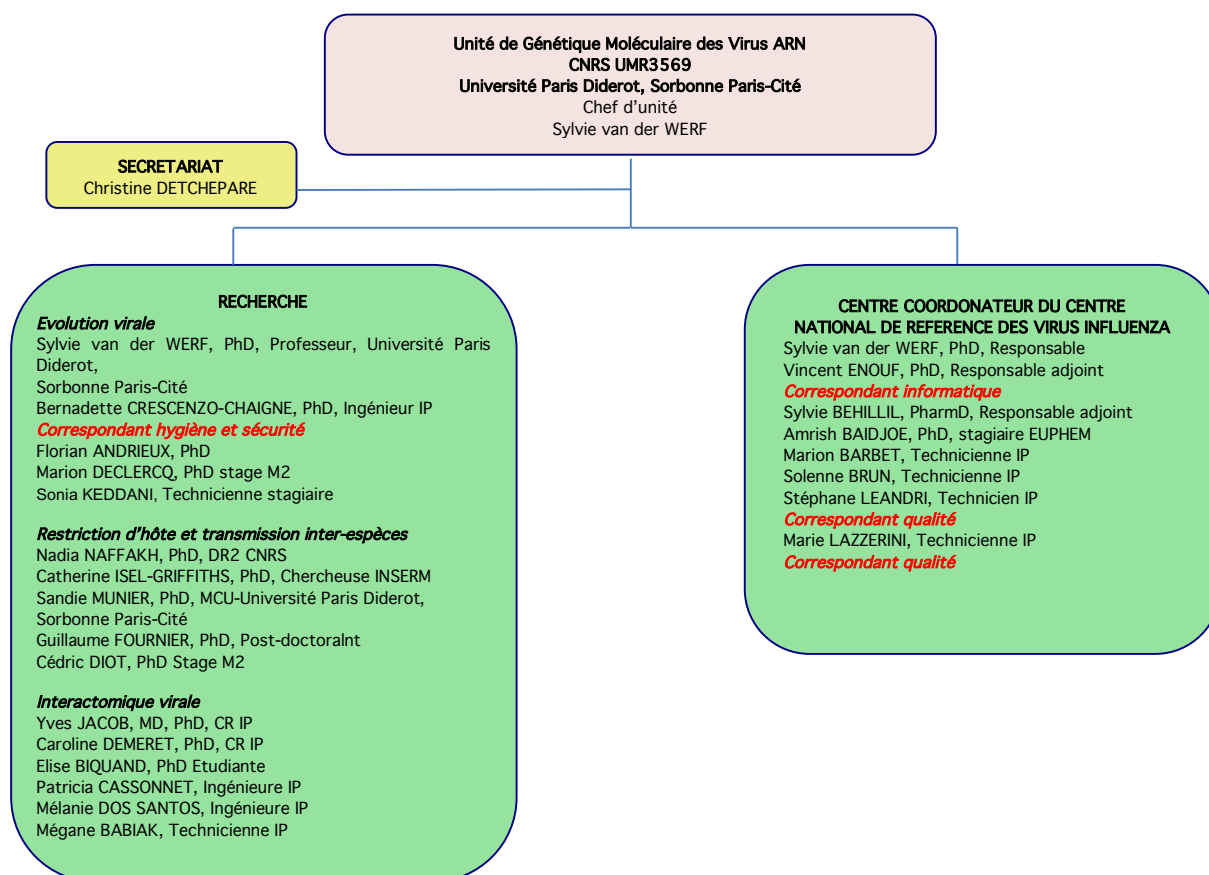
Contribuer aux travaux de préparation à une pandémie grippale de la Direction Générale de la Santé

ANNEXE 2 : EQUIPES ET ORGANIGRAMMES

➤ CNR-IPP

Nom	Prénom	Fonction	Qualification	Organisme payeur	ETP CNR Virus Influenzae
van der WERF	Sylvie	Responsable	Professeur; PhD	IP, Paris	0,05
ENOUF	Vincent	Responsable adjoint	PhD	IP, Paris	0,60
BEHILLIL	Sylvie	Responsable adjoint	Pharm	IP, Paris	0,75
BARBET	Marion	Technicien supérieur		IP, Paris	0,9
BRUN	Solenne	Technicien supérieur		IP, Paris	0,9
LAZZERINI	Marie	Technicien supérieur		IP, Paris	0,9
LÉANDRI	Stéphane	Technicien supérieur		IP, Paris	0,9
DETCHEPARE	Christine	Secrétaire de direction		IP, Paris	0,5

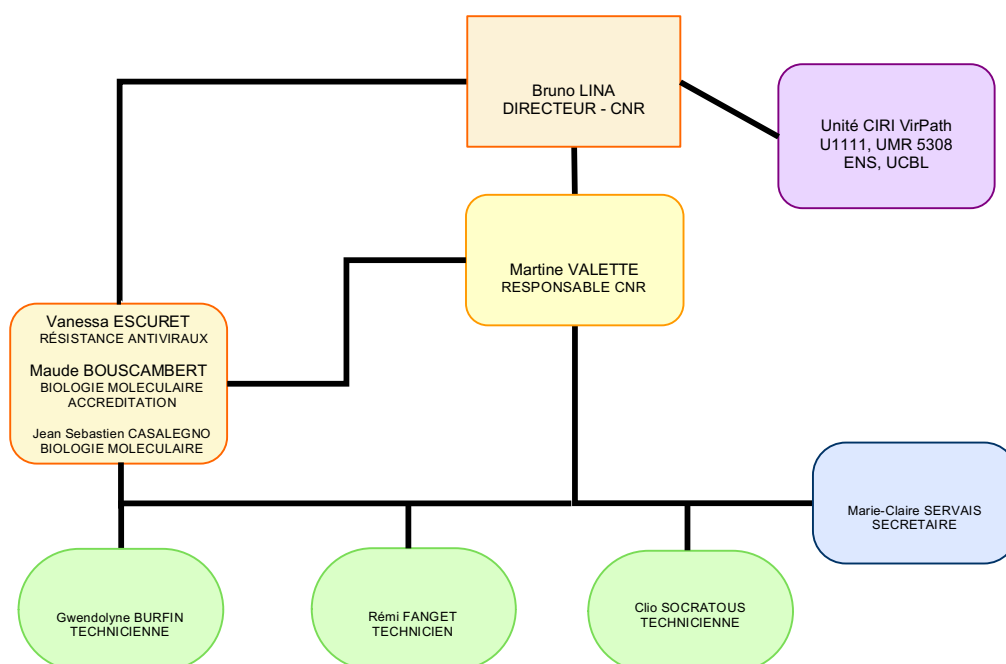
Organigramme



➤ **CNR-HCL**

Nom	Prénom	Fonction	Qualification	Organisme payeur	ETP CNR Virus Influenzae
LINA	Bruno	Responsable PU-PH	Med; PhD	HCL & UCBL	0,25
VALETTE	Martine	Responsable adjoint Praticien attaché	Pharm; PhD	HCL	0,9
BOUSCAMBERT	Maude	Praticien attaché	Pharm; PhD	HCL	0,2
ESCURET	Vanessa	MCU-PH	Pharm; PhD	HCL & UCBL	0,2
BURFIN	Gwendolyne	Technicien titulaire		HCL	0,9
FANGET	Rémi	Technicien contractuel		HCL	0,9
SOCRATOUS	Clio	Technicien contractuel		HCL	1
SERVAIS	Marie-Claire	Secrétaire médicale		HCL	0,4

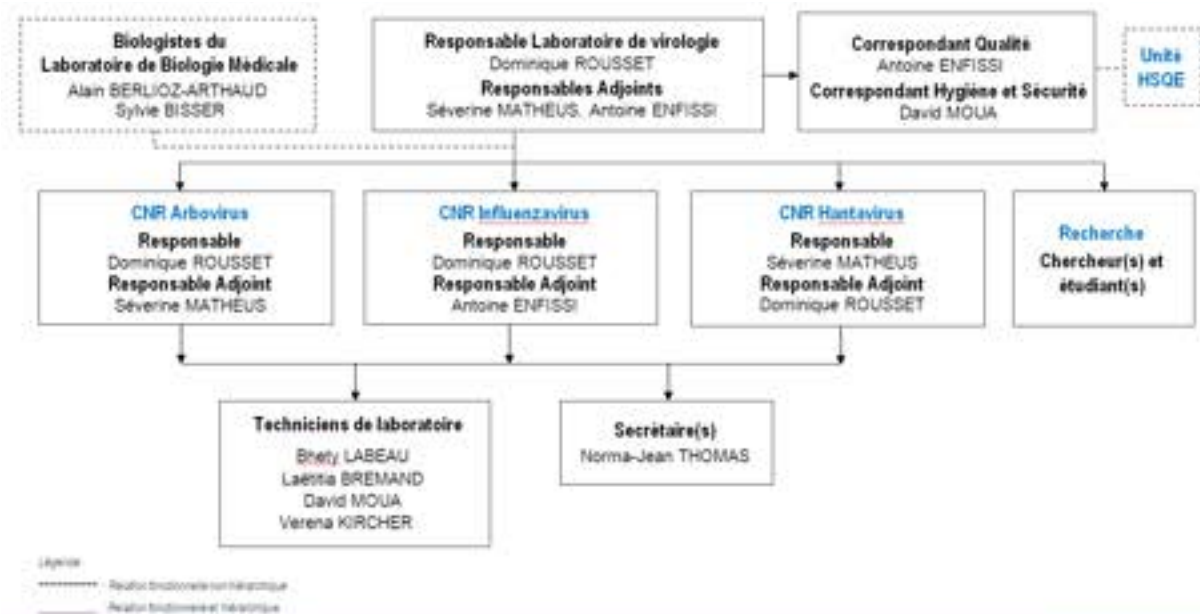
Organigramme



➤ **CNR-IPG**

Nom	Prénom	Fonction	Qualification	Organisme Payeur	ETP CNR Virus influenzae
ROUSSET	Dominique	Responsable	MD, PhD	IP, Paris	0,1
ENFISSI	Antoine	Responsable adjoint	PhD	IP, Guyane	0,9
BREMAND	Laetitia	Technicienne	BTS	IP, Guyane	0,5

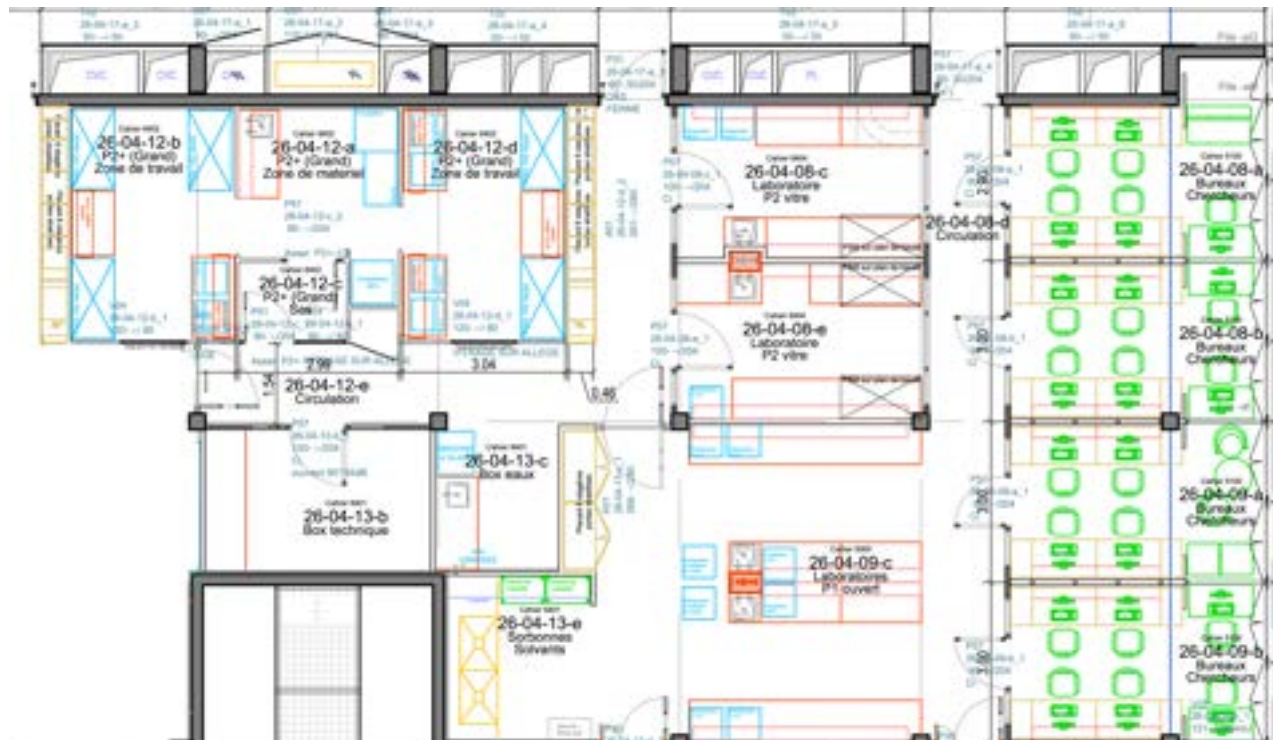
Organigramme



ANNEXE 3 : PLANS DES LOCAUX

➤ CNR-IPP

Centre François Jacob / étage 4



Bureaux : 26-04-08a / 26-04-08b / 26-04-09a

LSB2+ : 26-04-12

Réception échantillons : 26-04-08c

Culture cellulaire : 26-04-08e

Biologie moléculaire : 26-04-09c

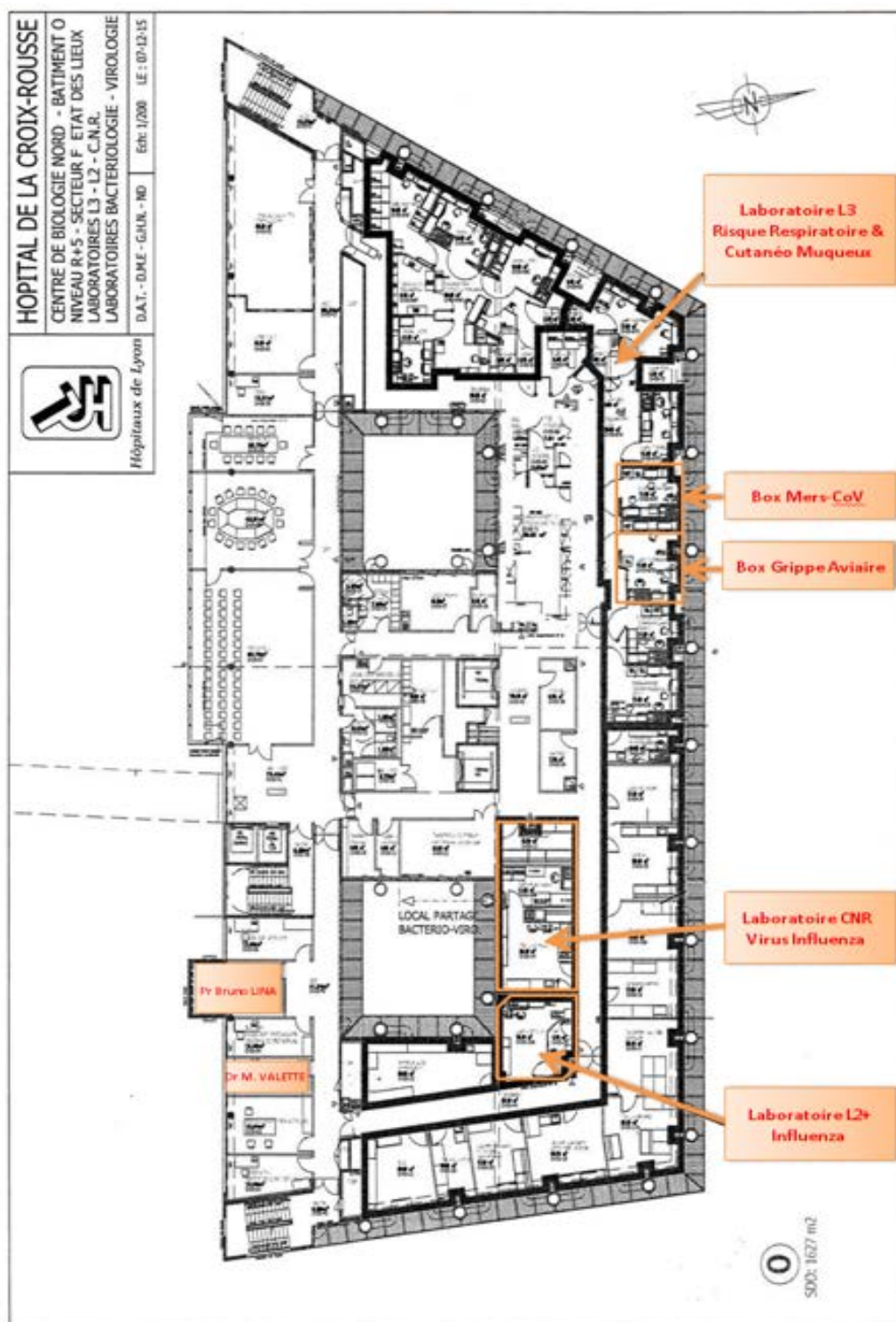
Stockage matériel : 26-04-13b

Un laboratoire type LSB2 (pièces 26-S2-10) est utilisé exclusivement par le CNR pour réaliser les mélanges réactionnels de PCR, les extractions d'acides nucléiques et l'ajout des contrôles positifs

Un Laboratoire type LSB3 est à disposition du CNR pour réaliser la mise en culture et l'analyse des virus hautement pathogènes ou émergents.

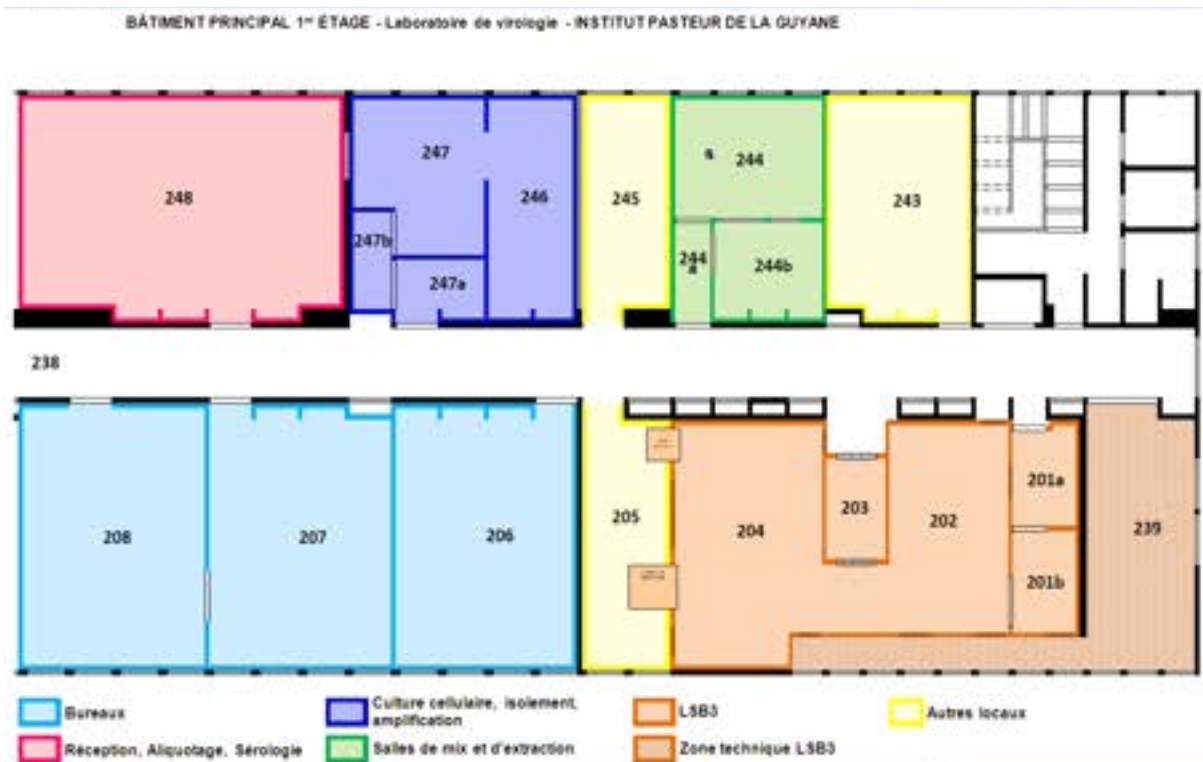
➤ **CNR-HCL**

Pôle HCL : Plan des locaux du Centre de Biologie Est – IAI – 5^è étage



➤ CNR-IPG

Au cours de l'année 2015, une restructuration du laboratoire de virologie a été engagée permettant d'étendre l'espace dédié à ses activités avec notamment la construction d'un nouveau laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 situé au premier étage du bâtiment principal. Le laboratoire de virologie dispose ainsi aujourd'hui d'une surface de 310 m².



Plan général du laboratoire de virologie

Outre les bureaux du personnel, le laboratoire de virologie comprend :

- une salle (pièce 248) où sont réalisées la réception et l'aliquotage des échantillons (35 m²).
 - un laboratoire LSB2 (pièces 247 et 246) dédié à l'entretien des cultures cellulaires, à l'isolement des virus de classe 2 (25 m²).
 - un laboratoire LSB2 dédié aux activités de biologie moléculaire de 20 m² comprenant une pièce pour la préparation des mix réactionnels (pièce 244b) et une pièce pour l'extraction des ARN (pièce 244a).
 - le nouveau laboratoire LSB3 de 70 m² est en cours de qualification (2^{ème} semestre 2016)
- Le laboratoire partage également avec l'ensemble des équipes de l'institut, une plateforme technique de biologie moléculaire.

ANNEXE 4 : LISTE DES PRINCIPAUX EQUIPEMENTS

➤ CNR-IPP

Qtité	Désignation	Utilisation
8	POSTE de SECURITE MICROBIOLOGIQUE	partagés
4	POMPE A VIDE	partagées
5	MICROCENTRIFUGEUSE	partagées
2	CENTRIFUGEUSE REFRIGEREE	partagées
8	RERIGERATEUR +4°C	partagées
2	RERIGERATEUR/CONGEL	
8	CONGELATEUR -20°C	partagés
8	CONGELATEUR -80°C	partagés
1	CONTAINER D'AZOTE LIQUIDE	
7	INCUBATEUR A CO2	partagés
1	LECTEUR DE MICROPLAQUES	partagés
1	LAVEUR DE MICROPLAQUES	partagés
1	PLAQUE CHAUFFANTE	
1	AGITATEUR MAGNETIQUE	
4	AGITATEUR DE TUBES - VORTEX	partagés
2	MICROSCOPE INVERSES	partagés
1	BALANCE STANDARD	
6	BAIN-MARIE	partagés
2	THERMOCYCLEUR PCR CONVENTIONNELLE	partagés
2	LIGHT CYCLER 480 (plaque 96)	partagés
1	PYROSEQUENCEUR	Commun CIBU/CNR
2	CUVE ET GENERATEUR POUR ELECTROPHORESE	
1	SYSTEME DE DOCUMENTATION DE GEL	partagé
2	COUVEUSES RETOURNEMENT AUTO	partagées
1	LYOPHILISATEUR	partagé
2	AUTOCLAVE	
1	FLUORIMETRE	partagé
1	MICROSCOPE A FLUORESCENCE	partagé
1	ACCÈS PLATEFORME P2M*	partagé
1	EXTRACTEUR AUTOMATIQUE (MDX QIAGEN)	Commun CIBU/CNR

* La Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) permet au CNR de disposer de personnels qualifiés et des dernières technologies dans les domaines du séquençage haut débit (NGS – Illumina/Ion Torrent) et de l'extraction d'acides nucléiques par automate (Roche Diagnostics).

➤ **CNR-HCL**

Qtité	Désignation	Utilisation
4	POSTE de SECURITE MICROBIOLOGIQUE	
2	POMPE A VIDE	
2	MICROCENTRIFUGEUSE	
3	CENTRIFUGEUSE	
2	RERIGERATEUR	
1	RERIGERATEUR/CONGEL	
6	CONGELATEUR -20°C	
5	CONGELATEUR -80°C	
1	INCUBATEUR TISSUS	
1	INCUBATEUR TISSUS et OPE	
1	INCUBATEUR A CO2	
2	ROULEURS de CELLULES	
1	AGITATEUR MAGNETIQUE	
1	AGITATEUR DE MICROPLAQUES Tridimensionnel	
1	AGITATEUR DE MICROPLAQUES	
1	LAVEUR DE MICROPLAQUES	
1	PLAQUE CHAUFFANTE	
6	AGITATEUR DE TUBES - VORTEX	
1	MICROSCOPE INVERSE	
1	BAIN-MARIE	
1	LECTEUR DE MICROPLAQUES	Commun labo Viro
1	LYOPHILISATEUR	Commun labo Viro

Liste des principaux équipements du laboratoire de Virologie nord utilisés par le CNR des Virus Influenzae pôle HCL

Equipements Cultures

Qtité	Désignation	Utilisation
1	POSTE de SECURITE MICROBIOLOGIQUE	Commun labo Viro
1	INCUBATEUR TISSUS	Commun labo Viro
1	INCUBATEUR A CO2	Commun labo Viro
1	RERIGERATEUR/CONGEL	Commun labo Viro
1	MICROSCOPE INVERSÉ	
1	COMPTEUR DE CELLULES	

Equipements Biologie Moléculaire

Qtité	Désignation	Utilisation
1	EXTRACTEUR (EasyMag)	Commun labo Viro
1	POSTE de SECURITE MICROBIOLOGIQUE	Commun labo Viro
1	HOTTE	Commun labo Viro
1	MICROCENTRIFUGEUSE	Commun labo Viro
1	RERIGERATEUR/CONGEL	Commun labo Viro
1	RERIGERATEUR	Commun labo Viro
1	CONGELATEUR -20°C	Commun labo Viro
2	THERMOCYCLEURS	Commun labo Viro
1	EXTRACTEUR	Commun labo Viro
2	THERMOCYCLEURS ABI	1 en prêt pour étude MERS-CoV
2	THERMOCYCLEURS EPPENDORF	
1	CENTRIFUGEUSE DE PLAQUES PCR	
1	CENTRIFUGEUSE DE PAILLASSE	
2	VORTEX	

Equipement Antivirogrammes

Qtité	Désignation	Utilisation
1	FLUORIMETRE	

➤ CNR-IPG

Qtité	Désignation
4	PSM
2	CENTRIFUGEUSE RÉFRIGÉRÉE
1	CENTRIFUGEUSE RÉFRIGÉRÉE HAUTE VITESSE
3	BAIN-MARIE
4	INCUBATEURS
2	INCUBATEURS A CO2
2	MICROSCOPES
2	MICROSCOPES INVERSÉS
1	PH-MÈTRE
1	BALANCE DE PRÉCISION
3	CONGÉLATEUR -20°C
5	CONGÉLATEUR -80°C
1	LAVEUR DE PLAQUES
1	LECTEUR DE PLAQUES
1	MACHINE A GLACE
1	HOTTE CHIMIQUE
1	HOTTE BIOCAP
3	THERMOCYCLEURS GENEAMP 9700 APPLIED BIOSYSTEMS
	THERMOCYCLEURS TEMPS RÉEL :
1	APPLIED BIOSYSTEMS ABI7300
1	APPLIED BIOSYSTEMS STEPONEPLUS
1	ROCHE LC480

1.1 Techniques de détection

Depuis la saison 2009-2010, la stratégie d'analyse prévoit en première intention la détection moléculaire des virus de grippe A et B dans les prélèvements primaires.

Les techniques de **(RT-)PCR** en temps réel (q(RT-)PCR) ciblant différents gènes viraux permettent la détection des virus grippaux et d'autres virus respiratoires directement sur les prélèvements. Occasionnellement, des techniques de RT-PCR commercialisées (Kits Argène/Biomérieux) sont utilisées. Ces techniques sont complétées par l'utilisation de PCR ciblant des gènes de ménage pour s'assurer de l'absence d'inhibiteurs de PCR et évaluer la qualité des prélèvements.

Afin d'assurer la calibration et le contrôle de la sensibilité des q(RT-)PCR, le CNR-IPP produit des transcrits synthétiques ou des plasmides quantifiés correspondant aux séquences ciblées.

Des techniques de qRT-PCR différentielle ou de pyroséquençage permettant la détection de mutations de résistance aux antiviraux ou associées à des changements de tropisme sont également disponibles pour les virus influenza A.

En cas de besoin, les laboratoires du CNR disposent des techniques d'ELISA immunocapture, d'immunofluorescence indirecte et d'analyse par cytométrie en flux sur cellules infectées.

1.1.1 Techniques de (RT-)PCR en temps réel (q(RT-)PCR)

➤ Non commerciales

- qRT-PCR ciblant le gène M pour la détection des virus influenza de type A
- qRT-PCR ciblant les gènes HA ou NA pour la détection des virus influenza de type B
- qRT-PCR^s ciblant le gène NS pour la détection des virus influenza de type C
- qRT-PCR ciblant les gènes de l'hémagglutinine (HA) ou de la neuraminidase (NA) pour le sous-typage des virus influenza A humains : H1, N1, H1pdm09, N1pdm09, H3, N2
- qRT-PCR multiplex ciblant les gènes HA des virus influenza B et permettant la distinction des lignages B-Yamagata et B-Victoria au CNR-IPP, -HCL et -IPG (Watzinger et al., J Clin Microbiol. 2004 November; 42(11): 5189–5198)
- qRT-PCR ciblant les gènes HA ou NA de virus influenza aviaires des sous types suivants : H5 (2 formats ciblant des régions distinctes pour les clades 1, 2 et 3), H5 de H5N8, H7, H9, H10, N1av, N7, N9, N8(H10), N8(H5) CNR-IPP; pour le gène HA des sous-types H2, H7 & H9 CNR-HCL ; H5, H7 & N9 CNR-IPG;
- qRT-PCR ciblant les gènes HA de virus influenza aviaires des sous types suivants : H5 (format CDC ciblant des régions distinctes pour les clades 1, 2 et 3)
- qRT-PCR ciblant la NP des virus porcins (format CDC)
- RT-PCR conventionnelle ciblant les gènes HA ou NA de virus influenza aviaires des sous types suivants : H1, H3, H4, H6, N2av, N3, N6, N8, H5 site de clivage et H7 site de clivage (CNR-IPP) ou H7, H9 et H5 site de clivage (CNR-HCL)
- qRT-PCR ciblant chacun des 8 segments des virus influenza A de référence (CNR-IPP)
- qRT-PCR ciblant la région NTR5'(1) pour la détection des entérovirus D68 (CNR-IPP & -HCL)
- qRT-PCR ciblant le gène N pour la détection des VRS A et B (CNR-IPP & IPG)

- qRT-PCR ciblant le gène N pour la détection des hMPV (CNR-IPP)
- qRT-PCR ciblant la région 5' non-codante du génome pour la détection des rhinovirus
- qRT-PCR ciblant le gène POL (2 régions distinctes) pour la détection du SARS-CoV, CNR-IPP
- qRT-PCR ciblant le gène N pour la détection du SARS-CoV, CNR-IPP
- qRT-PCR ciblant le gène UpE pour la détection du MERS-CoV (Corman *et al.* 2012)
- qRT-PCR ciblant le gène ORF1a pour la détection du MERS-CoV (Corman *et al.* 2012)
- qRT-PCR ciblant le gène ORF1b pour la détection du MERS-CoV (Corman *et al.* 2012)
- RT-PCR conventionnelle générique ciblant le gène POL pour la détection des coronavirus (CNR-IPP[§] & -HCL)
- qRT-PCR ciblant le gène POL pour la détection du SARS-CoV (CNR-IPP[§])
- RT-PCR conventionnelle pour la détection des agent bactériens dits « atypiques » *mycoplasma pneumoniae* et *chlamydia pneumoniae* (CNR-IPP[§])
- qPCR ciblant le gène NP1 pour la détection des Bocavirus humains (CNR-IPP[§])
- PCR conventionnelle pour la détection des adénovirus (CNR-IPP[§])

* qRT-PCR fonctionnant avec les mêmes conditions de cycles d'amplification.

§ (RT-)PCR pour lesquelles les protocoles sont disponibles mais qui ne sont pas utilisées actuellement.

➤ PCR ciblant des gènes de ménage

- qRT-PCR ciblant la GAPDH (CNR-IPP, -HCL) ou la Rnase P (CNR-IPP)

➤ Techniques de RT-PCR commerciales

Kits Argène/Biomérieux pour la détection des virus suivants : VRS (PCR Multiplex : virus grippaux A et B et VRS) ; hMPV et ADV (Kit Argene, PCR duplex) ; hBoV, *mycoplasma pneumoniae* et *chlamydia pneumoniae* (CNR-HCL).

Transcrits synthétiques ou plasmides quantifiés contrôles

Produits par le **CNR-IPP** pour les q(RT)-PCR suivantes :

- qRT-PCR ciblant le gène M pour la détection des virus influenza de type A
- qRT-PCR ciblant le gène NS pour la détection des virus influenza de type C
- qRT-PCR ciblant le gène N1
- qRT-PCR ciblant le gène H1pdm09
- qRT-PCR ciblant le gène H5 (clade 1 / taille <500 pb)
- qRT-PCR ciblant le gène H10 du virus aviaire H10N8
- qRT-PCR ciblant le gène N8 du virus aviaire H10N8
- qRT-PCR ciblant le gène H5 du virus aviaire H5N8
- qRT-PCR ciblant le gène N8 du virus aviaire H5N8
- qRT-PCR ciblant le gène POL du SARS-CoV
- qRT-PCR ciblant le gène N du SARS-CoV
- qRT-PCR ciblant le gène UpE du MERS-CoV (transcrit non MOT)
- qRT-PCR ciblant le gène ORF1a du MERS-CoV (transcrit non MOT)
- qRT-PCR ciblant le gène ORF1b du MERS-CoV
- qPCR ciblant le gène NP1 des Bocavirus humains
- qRT-PCR ciblant la GAPDH

1.1.2 Autres techniques de détection

- ELISA immunocapture pour virus influenza A et B
- ELISA immunocapture pour les virus parainfluenza
- immunofluorescence indirecte
- cytométrie en flux

1.2 Techniques d'isolement

- isolement des virus influenza A et B en cellules MDCK ou MDCK-SIAT1
- isolement des virus influenza C en cellules SK (CNR-IPP)
- isolement des virus influenza A, B, C sur œuf de poule embryonné voie amniotique ou allantoïque (CNR-IPP, -HCL)

1.3 Techniques d'identification

- inhibition d'hémagglutination (IHA)
- microneutralisation

1.4 Caractérisation génétique des virus influenza

1.4.1 Techniques de détection de polymorphismes génétiques

- H275Y gène NA du H1N1pdm09: qRT-PCR différentielle (CNR-IPP, -HCL, -IPG)
- S31N gène M des H1N1pdm09 et H3N2 : pyroséquençage (CNR-IPP)
- I223R gène NA du H1N1pdm09: pyroséquençage (CNR-IPP)
- H275Y gène NA des H1N1 et H1N1pdm09 : pyroséquençage (CNR-IPP)
- D222G/E/N gène HA du H1N1pdm09 : pyroséquençage (CNR-IPP)
- E119V gène NA des H3N2: pyroséquençage (CNR-IPP)
- R292K gène NA des H3N2: pyroséquençage (CNR-IPP)
- N294S gène NA des H3N2: pyroséquençage (CNR-IPP)

1.4.2 Techniques de séquençage

Séquençage conventionnel des génomes complets pour les virus influenza A (H1N1, H1N1pdm09, H3N2, H5N1), B (lignage B-YAM et B-VIC).

En plus du séquençage conventionnel couramment utilisé jusqu'à maintenant, le CNR-IPP réalise aussi du séquençage haut débit (NGS) grâce à la Plateforme de Microbiologie Mutualisée P2M (IPP) (annexe 6). Cela permet de séquencer un grand nombre de virus à la fois et l'ensemble de leurs 8 segments et ainsi de suivre l'évolution des mutations d'intérêt comme celles responsables de variations de sensibilité aux antiviraux ou de virulence.

Le CNR-HCL a développé le séquençage haut débit (NGS). La stratégie adoptée au CNR-HCL est de sélectionner d'une part des échantillons de la surveillance représentatifs de l'épidémie (répartition géographique, début, pic & fin de l'épidémie) pour lesquels le séquençage porte essentiellement sur le gène de l'hémagglutinine. D'autre part, un autre échantillonnage est réalisé pour les échantillons de patients hospitalisés (cas graves, réanimation), pour les excréments prolongés, pour des situations particulières (cas groupés EHPAD ..) le séquençage porte alors sur les 8 segments.

1.5 Techniques sérologiques

- IHA
- Immunofluorescence
- ELISA
- microneutralisation
- fixation du complément
- western-blot

1.6 Caractérisation phénotypique des virus grippaux

- titrage par plages de lyse
- titrage en TCID50
- cinétique de multiplication virale
- tests de sensibilité aux antiviraux par :
 - tests de fluorescence ou fluorimétrique (substrat MUNANA) pour la détermination de la sensibilité aux antineuraminidases.
 - Tests de réduction de plage ou de réduction de titre HA pour la sensibilité aux adamantanes

ANNEXE 6 : PLATEFORME DE MICROBIOLOGIE MUTUALISEE (P2M)

La Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) est ouverte à l'ensemble des CNR ainsi qu'aux laboratoires de référence dans le Réseau International des Instituts Pasteur et instituts associés. Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M regroupe les demandes et permet ainsi l'utilisation en routine, jusqu'ici impossible, du séquençage à haut débit multi-pathogènes (NGS par les technologies **Illumina** et **Ion Torrent**).

Cette plateforme P2M est située dans le bâtiment Pasteur Bio-Top (au deuxième étage), où est regroupé l'ensemble des plateformes de séquençage NGS de l'Institut Pasteur (OMICS Center). Le regroupement de ces structures a permis de mutualiser les locaux et de favoriser les échanges afin d'optimiser les processus de production de séquences. L'Institut Pasteur fait également appel au savoir-faire de la société IntegraGen dans le domaine de l'organisation du séquençage NGS. Celle-ci apporte une organisation rigoureuse et adaptée qui permet de limiter les coûts, tout en assurant la rapidité et la régularité de production des séquences, nécessaires pour que cette méthode devienne la référence en termes de surveillance épidémiologique.

En plus du responsable de P2M (Vincent ENOUF) et d'une technicienne supérieure de laboratoire de l'Institut Pasteur, à temps plein, l'équipe de production est complétée par du personnel de la société IntegraGen (un chef de production et une technicienne, et si nécessaire, un technicien en cas d'absence ou d'urgence). Des bioinformaticiens missionnés par le Centre de Bioinformatique, Biostatistique et Biologie Intégrative (C3BI) de l'Institut Pasteur réalisent les tests de qualification en sortie de séquenceur et apportent également leur aide, si besoin, aux laboratoires, pour la mise en place de « pipelines » d'analyse des séquences. Actuellement, deux bio-informaticiens (1,5 ETP) apportent leurs compétences aux CNR, encadrés par Sylvain Brisse, qui a initié et coordonné les analyses bioinformatiques au sein de la plateforme.

Le séquençage est réalisé avec la technologie Illumina. Les banques sont préparées avec le kit Nextera XT et engagées sur le séquenceur NextSeq 500. Une série de matériels est également utilisée pour réaliser les contrôles de qualité tout au long du processus de fabrication de séquence. Des robots pipeteur et extracteur permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production. Au plan pratique, les extractions d'acides nucléiques sont réalisées les mercredi et jeudi. Le protocole de fabrication de librairies est unique quel que soit le pathogène (bactéries, virus, champignons ou parasites) concerné. Ce choix permet d'optimiser les délais et, ainsi, d'intégrer cette technologie dans le panel des outils de surveillance microbiologique. Les librairies sont préparées tout au long de la semaine et deux runs de séquençage sont lancés chaque semaine. L'achat d'un nouveau séquenceur va apporter plus de flexibilité, le nouvel objectif étant fixé à 4 runs par semaine. Plusieurs équipements sont en « libre-service », par exemple un extracteur automatique (qui permet de réaliser l'extraction de grandes séries d'échantillons dans le cadre d'épidémie par exemple), ou le MALDI-TOF.

ANNEXE 7 : DESCRIPTION DES COLLECTIONS

Collections de Prélèvements et Souches virales

Les 3 laboratoires du CNR disposent d'une collection de prélèvements biologiques humains positifs ou négatifs pour la grippe. Cette collection remonte à la saison grippale 1993-1994 représentant plus de 35.000 prélèvements (CNR-IPP), 18.000 prélèvements (CNR-HCL), environ 3300 prélèvements (CNR-IPG) et comprend les informations cliniques associées permettant des études rétrospectives si nécessaire.

Les 3 laboratoires du CNR détiennent et maintiennent une collection de souches de virus grippaux de référence d'origine nationale et internationale comprenant notamment les souches de la composition vaccinale des sous-types H1N1, H2N2, H3N2 et de type B dont les plus anciennes remontent à 1933. Une collection structurée de 72 souches virales remontant à l'année 1968 et associant les informations suivantes : titre viral en pfu/ml, caractérisation antigénique ; séquences des gènes HA, NA, M, etc... a été mise en place au CNR-IPP avec l'aide de la CRBIP. Cet effort sera poursuivi dans la mesure des moyens disponibles. La création d'une base spécifique dédiée aux souches de référence est en cours pour le CNR- HCL.

Les collections de souches de référence sont complétées par des collections d'isolats représentatifs des virus ayant circulé au cours de chacune des saisons de grippe. Chaque année, au CNR-IPP, depuis 1997, les isolats viraux correspondant aux différents sous-types viraux H1N1, H1N2, H3N2, et de type B (lignages B-Yamagata et B-Victoria) ainsi qu'à des isolats viraux ayant des caractéristiques particulières (résistance aux antiviraux, mutations de virulence, etc..) ont été conservés et mis en collection. Les données cliniques associées ainsi que, pour une sélection de 20 à 50 isolats chaque saison, les séquences des gènes HA, NA, et éventuellement d'autres segments (M notamment) sont disponibles. Ainsi, le CNR-IPP dispose d'une collection de plus de 23 000 isolats de virus grippaux humains.

Des collections de souches de virus grippaux de virus animaux sont également disponibles.

Il s'agit de souches de référence de virus influenza A aviaires correspondant aux principaux sous-types circulant chez les oiseaux H1, H2, H3, H4, H5, H7, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 ; N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N8 et notamment de souches de virus hautement pathogènes H5N1 représentatives des différentes clades et sous-clades (CNR-IPP et/ou -HCL). De par son statut de laboratoire de référence H5 de l'OMS, le CNR-IPP dispose en outre d'isolats et de prélèvements humains ou aviaires positifs pour les virus H5N1, notamment en provenance du Cambodge.

Suite à leur émergence, le CNR possède aussi le nouveau coronavirus MERS-CoV et le virus grippal A(H7N9).

Une collection d'isolats primaires et de prélèvements positifs de virus influenza aviaires associés aux données de collecte (date, lieu et espèce) est également disponible (CNR-IPP).

Des virus porcins des différents sous-types (H1N1, H1N2 et H3N2) et correspondant aux lignages Nord-Américain et Eurasiatique ainsi que des isolats de virus porcins français sont également disponibles (CNR-IPP, CNR-HCL).

Des virus de référence équins de sous-type H7N7 (qui n'est plus en circulation) et H3N8 ainsi que des isolats de virus équins français font également partie de la collection (CNR-IPP, -HCL).

Collections de Sérums

Les CNR-HCL et -IPP disposent de collections de sérums de lapin et/ou de furet dirigés contre la plupart des souches vaccinales de référence ainsi que vis-à-vis d'autres isolats variants dont certains isolats français. Ces sérums ont été soit produits localement ou à façon au fil des années par les laboratoires des CNR-HCL et -IPP (sérums de lapin, certains

sérums de furet) ou ont été obtenus auprès des CCOMS, notamment des CCOMS de Londres et d'Atlanta.

En tant que laboratoire de référence H5 du réseau de l'OMS, le CNR-IPP dispose également en quantité limitée de sérums de furet dirigés contre les principaux représentants des différents clades de virus H5N1 aimablement fournis par le CCOMS d'Atlanta.

Des sérums de lapin ou de furet dirigés contre certaines souches de référence porcines ou équines sont également disponibles (CNR-HCL, -IPP).

Pour les enquêtes sérologiques chez l'homme, les sérums de référence du NIBSC pour la standardisation des analyses de mesure des anticorps anti H1N1pdm09 (CNR-IPP et -HCL) et H5N1 (CNR-IPP) sont disponibles. Une collection limitée de sérums humains est également à disposition (CNR-IPP, -HCL).

Conditions de stockage

Les collections de prélèvements, d'isolats et de souches virales sont conservées à -80°C dans des congélateurs localisés dans des pièces à accès sécurisé par badge. Ces congélateurs possèdent tous un système de sondes de mesure de température reliées à un dispositif d'enregistrement continu et à une centrale d'alarme (CNR-IPP, -HCL, -IPG). Chaque congélateur est associé à une liste de personnes avec leurs coordonnées à prévenir au cas où la température dépasserait -65°C (CNR-IPP, -HCL). En cas de besoin, les souches ou les isolats peuvent être lyophilisés (CNR-HCL).

Conditions de mise à disposition des collections

Les 3 laboratoires du CNR des virus influenzae mettent à disposition leurs collections autant que de besoin et dans la limite des disponibilités dans le cadre strict des activités de surveillance. Ils fournissent également les souches de référence nécessaires à l'activité de surveillance aux laboratoires correspondants qui en font la demande pour les activités de surveillance.

En tant que NIC et dans le cadre du réseau Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) du Global Influenza Program (GIP) de l'OMS, comme stipulé par le cahier des charges, les 3 laboratoires du CNR mettent à disposition des CCOMS, les prélèvements ou virus d'intérêt et représentatifs de la circulation virale qu'ils ont analysés et ou isolés, ainsi que leurs données associées pour contribuer à la surveillance mondiale et la définition de la composition vaccinale.

Pour tout transfert de prélèvements ou de souches et de données associées, ils se conforment aux dispositions régissant l'accès et le partage des souches tel que stipulé notamment par la réglementation internationale, les dispositions nationales applicables à ces activités le cas échéant, les recommandations faites par l'OMS à ses Etats membres sur ce sujet (dispositions su PIP framework notamment), et au travers d'un cadre contractuel si nécessaire. Dans tous les cas, le transfert des prélèvements et isolats ou souches virales se fait dans la limite de leur disponibilité.

Pour les activités qui ne sont pas strictement liées aux activités de surveillance, et notamment pour les activités de recherche, les dispositions suivantes sont appliquées par les 3 laboratoires du CNR (CNR-IPP, -IPG et -HCL) :

L'accès aux souches, aux prélèvements biologiques et données associées collectés dans le cadre de l'activité du CNR-IPP est conditionné par la mise en place de documents contractuels spécifiques. Ainsi, est exigé pour le transfert du matériel biologique et des données associées, la mise en place a minima d'un accord de transfert de matériel biologique (Material Transfer Agreement -MTA) ou d'un accord de collaboration selon la nature des interactions entre les deux parties. Suivant la nature industrielle ou académique du partenaire, ces accords donneront lieu ou pas à une contrepartie financière.

Ces accords ont notamment pour objet d'assurer le transfert de la détention physique du matériel au partenaire. L'unité de recherche reconnue CNR, de par la valorisation de son savoir-faire et de son expertise sur le matériel biologique concerné, reste détenteur des prélèvements biologiques et données associées ou propriétaire des droits existants sur les souches et données associées y afférant.

Différents points essentiels sont appréhendés dans ces accords :

- le partenaire s'engage à n'utiliser les souches, les prélèvements biologiques et données associées que dans le cadre d'un programme de recherche défini spécifiquement.
- les résultats issus du programme de recherche devront systématiquement être communiqués par le partenaire au CNR ; le CNR sera également associé ou remercié dans les publications et/ou communications.
- le tiers partenaire s'engage à ne pas transférer les souches, les prélèvements biologiques et les données associées à des tiers et à retourner ou détruire le matériel biologique à la fin du programme de recherche.

En termes de valorisation, l'Institut Pasteur (CNR-IPP et -IPG) et les Hospices Civils de Lyon s'assurent dans certaines circonstances de la copropriété des résultats issus des travaux effectués sur le matériel biologique et veillent à ce que la valorisation du savoir-faire et de l'expertise des CNR-IPP, -IPG et -HCL ayant conservé, traité, trié et analysé le matériel biologique soit garantie au titre de l'accord.

Lorsque le matériel biologique et les données associées sont mis à disposition dans le cadre d'une collaboration scientifique par laquelle les partenaires s'associent de manière plus conséquente à la réalisation du programme de recherche, la valorisation des travaux menés conjointement devra tenir compte des apports respectifs de chacun des partenaires.

Les accords excluent toute garantie relative (i) à la nature appropriée des souches, des prélèvements biologiques et données associées pour une utilisation spécifique et (ii) à la qualité non-infectieuse du matériel biologique. L'interdiction de l'utilisation du matériel biologique sur l'homme et sur les animaux, le cas échéant, est également stipulée dans l'accord. Enfin, les CNR-IPP, -IPG et -HCL n'assument aucune responsabilité quant à l'utilisation du matériel biologique par le partenaire.

ANNEXE 8 : LISTE DES LABORATOIRES

a) Réseau RENAL

Région Nord

Région	Responsable(s)
Ile de France	
Ambroise Pare	Dr E. GAULT
Avicenne	Dr P. DENY
Bichat	Pr F. BRUN-VEZINET
Bicêtre	Pr P. NORDMANN
Henri Mondor	Pr C.J. SOUSSY
Versailles	Dr M. HARZIC
Necker	Dr M. LERUEZ-VILLE
Paul Brousse	Pr AFONSO-ROQUE
Pitie Salpetrière	Pr H. AGUT
Robert Debré	Dr E. BINGEN
Saint-Louis	Pr F. SIMON
Cochin	Pr F. ROZENBERG
Trousseau-Saint Antoine-Tenon	Pr A. GARBARG-CHENON
Pontoise	Dr M. THIBAUT
Poissy	Dr V. SERAZIN
Foch	Dr FARFOUR
Province	
Strasbourg	Pr F. STOLL-KELLER
Dijon	Dr JB BOUR
Reims	Pr L. ANDREOLETTI
Nancy	Pr V. VENARD
Besançon	Pr G. HERBEIN
Lille	Pr D. HOBER
Amiens	Pr G. DUVERLIE et Pr F. EB
Caen	Pr Astrid VABRET
Brest	Pr MC LEGRAND-QUILLIEN
Rennes	Pr R. COLIMON
Orléans	Dr M. MACE
Tours	Dr C. GAUDY-GRAFFIN
Rouen	Pr JC PLANTIER
Angers	Dr H. LE GUILLOU-GUILLEMETTE
Nantes	Dr M. COSTE-BUREL

Hôpitaux Militaires : HIA Begin – Dr A. MERENS, HIA Legouest – Dr Y. ROBERT, HIA Clermont Tonnerre – Dr P. LE GUEN.

Région Sud

Région	Responsable(s)
Aix-en-Provence	Dr Evelynne LAGIER
Annecy	Dr Bruno CHANZY
Bordeaux	Pr Herve FLEURY
Chambéry	Dr Didier RAFFENOT
Clermont-Ferrand	Pr Hélène .PEIGUE-LAFEUILLE
Grenoble	Pr Jean-Marie SEIGNEURIN
Limoges	Pr François DENIS
Lyon	Pr Bruno LINA, Pr Patrice André
Marseille	Pr Didier RAOULT
Montpellier	Pr Van DE PERRE
Nice	Pr Valérie GIORDANENGO
Poitiers	Pr Gérard AGIUS
Saint-Etienne	Pr Bruno POZZETTO
Toulouse	Pr Jacques IZOPET
<u>Hôpitaux Militaires</u> : Bordeaux – Lyon - Marseille – Toulon	

b) Liste des échanges avec des organismes extérieurs

Exportations

➤ CNR-IPP

Adresse	Interlocuteur	Désignation produit	Date
CHU Reims	Pr ANDREOLETTI	Prélèvements respiratoires	2015/2016
F Crick Institute Londres	Pr John McCAULEY	Virus grippaux saisonniers	26/01/2016
F Crick Institute Londres	Pr John McCAULEY	Virus grippaux saisonniers	17/08/2016
CHU Dijon	Dr BOUR	Transcrit H5N1	09/10/2015
CHU St Etienne	Dr PILLET	Transcrit MERS-CoV	20/10/2015
CHU Rouen	Dr PLANTIER	Transcrit MERS-CoV	21/10/2015
CHU Dijon	Dr BOUR	Souches de gripes saisonnières	02/11/2015
CHU Rennes	Dr LAGATHU	Transcrits H5N1 et MERS-CoV	25/11/2015
CHU Nancy	Dr SCHVOERER	Transcrit H5N1	01/12/2015
CHU Nancy	Dr SCHVOERER	Protocole PCR de détection	26/11/2015
CHU Nantes	Dr MOREAU-KLEIN	Protocole PCR de détection	30/11/2015
CHU Brest	Dr PILORGE	Protocole PCR de détection	23/02/2016

➤ CNR-HCL

Adresse	Interlocuteur	Désignation produit	Date
F Crick Institute Londres	Pr John McCAULEY	Virus grippaux saisonniers	17/08/2016
F Crick Institute Londres	Pr John McCAULEY	Virus grippaux saisonniers	26/01/2016

ANNEXE 9 : TECHNIQUES DIVERSES

Méthode de prélèvement naso-pharyngé

Les médecins généralistes et pédiatres du réseau Sentinelles effectuent un écouvillonnage naso-pharyngé profond chez les deux premiers patients de la semaine présentant un syndrome grippal selon la définition suivante : fièvre supérieure à 39°C, d'apparition brutale, accompagnée de myalgies et de signes respiratoires (s'ils n'ont pas de lien entre eux, quel que soit leur âge et présentant les symptômes depuis moins de 48h).

L'écouvillon est introduit dans un tube contenant du milieu de transport pour virus. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche clinique qui comporte des renseignements concernant le patient : identification, âge, sexe, signes cliniques, statut vaccinal, traitement ainsi que les coordonnées du médecin préleveur.

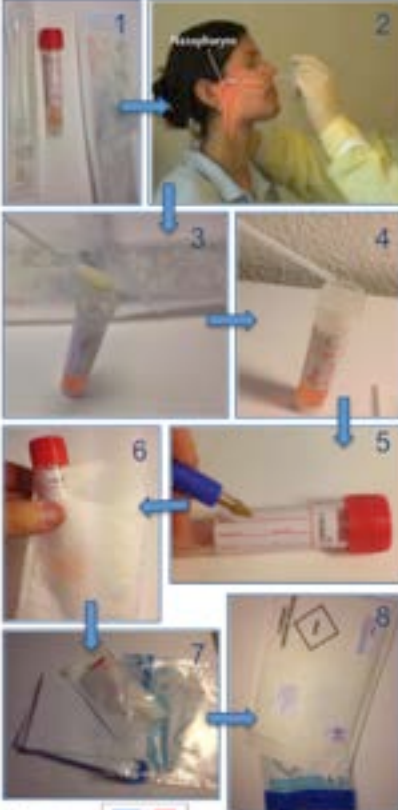
L'écouvillon est adressé au laboratoire par la poste dans un emballage sécurisé.

Ci-dessous le mode opératoire de l'écouvillonnage naso-pharyngé adressé au médecin



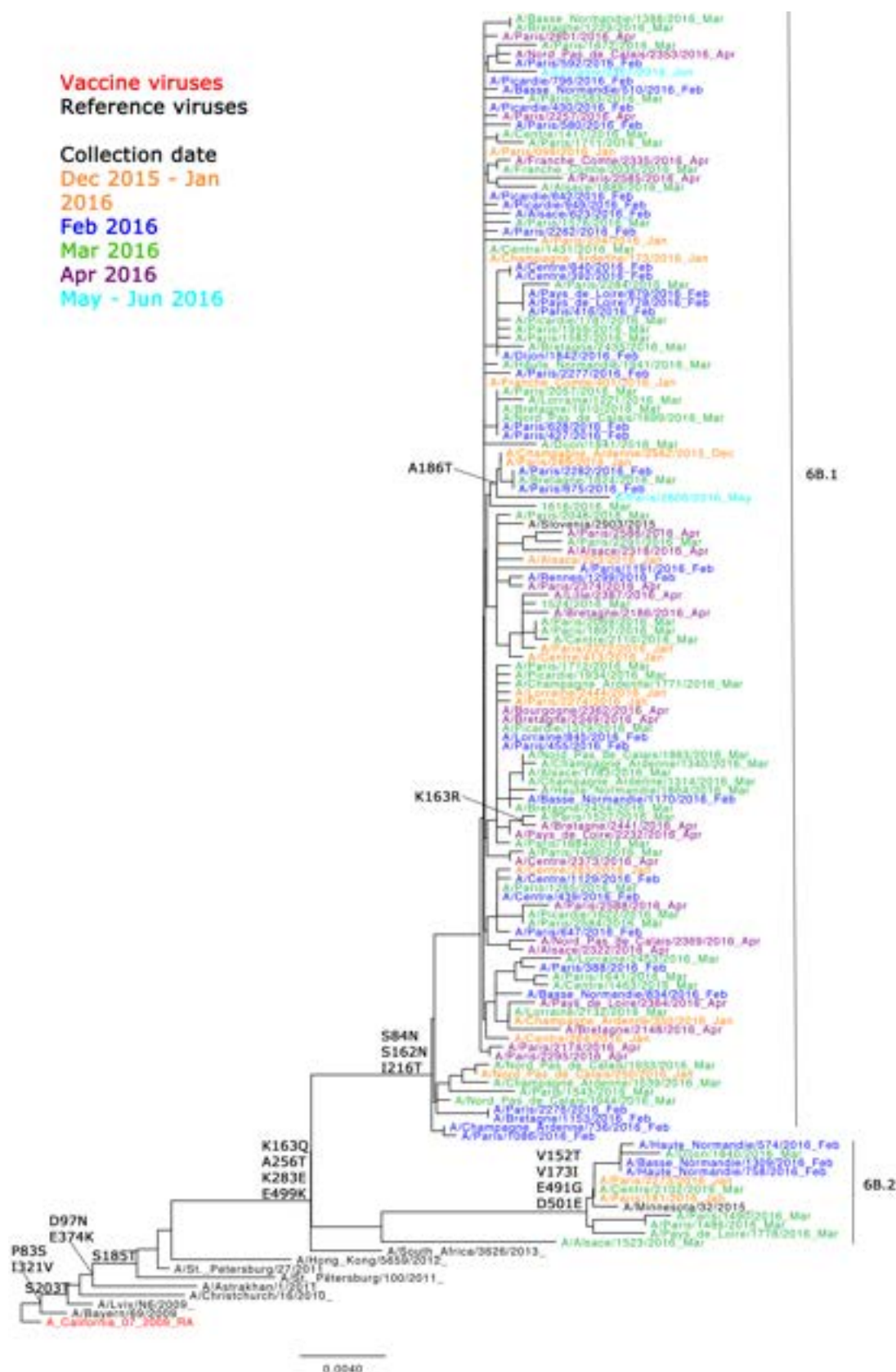
Mode opératoire de l'écouvillonnage naso-pharyngé

1. Ouvrir le sachet contenant l'écouvillon
2. Insérer le plus loin possible l'écouvillon dans la narine
Effectuer une rotation lente contre la paroi nasale afin de détacher des cellules (peut donner envie d'éternuer)
3. Placer l'écouvillon dans le milieu de transport
4. Casser la tige de l'écouvillon pour laisser le coton à demeure dans le liquide
5. Fermer hermétiquement le tube ensemencé en vissant le bouchon à fond et noter les trois premières lettres du nom et prénom du patient sur l'étiquette du tube
6. Placer le tube dans l'absorbant, puis dans le sachet plastique de transport
7. Placer le questionnaire dans la poche extérieure du sachet de transport
8. Placer le tout dans l'enveloppe à bulles préaffranchie prévue à cet effet et envoyer le plus rapidement possible
9. Ne pas oublier de déclarer le patient (Logiciel Jsentinel ou site Sentimed)

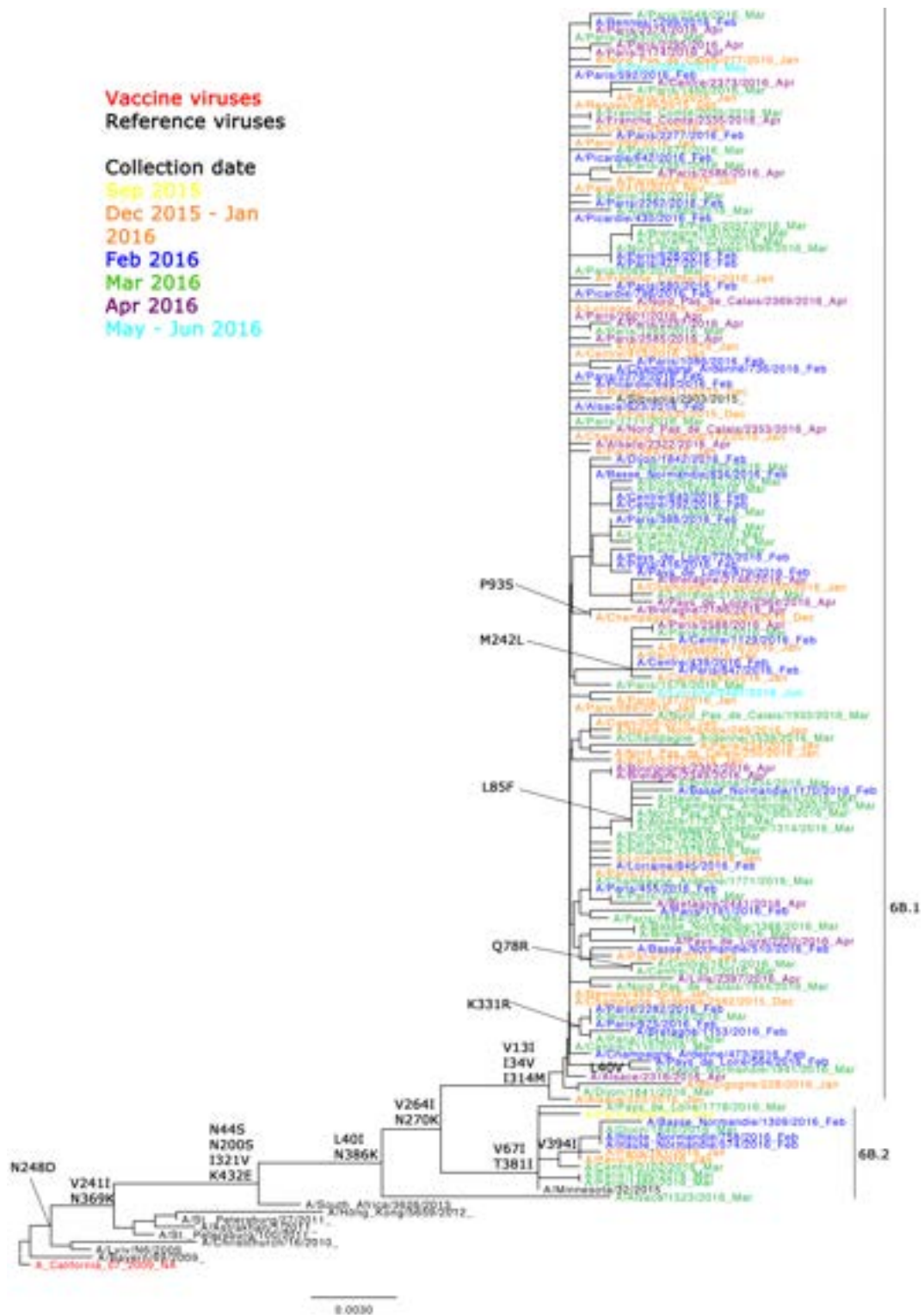




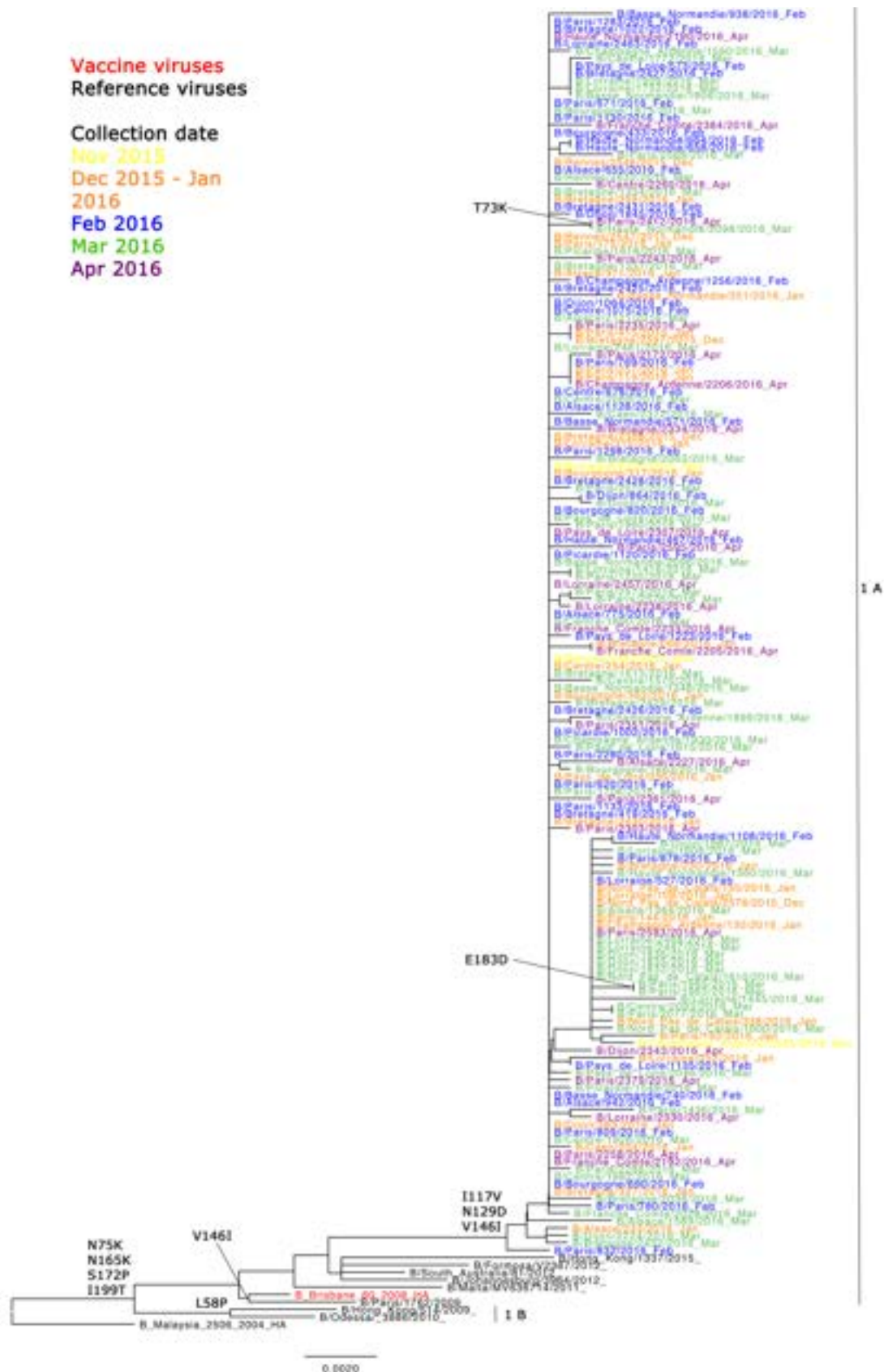
ANNEXE 10 : ANALYSE PHYLOGENETIQUE DES SEQUENCES NUCLEOTIDIQUES DES GENES HA ET NA DES VIRUS DE TYPE A ET B



Analyse phylogénétique du gène HA des virus A(H1N1)pdm09 / saison 2015-2016



Analyse phylogénétique du gène NA des virus A(H1N1)pdm09 / saison 2015-2016



Analyse phylogénétique du gène HA des virus B Victoria / saison 2015-2016

