

Rapport annuel d'activité

2021

**Centre national de référence
Laboratoire Expert
Orthopoxvirus**

**Année d'exercice
2020**

Résumé analytique (en français et en anglais)

La famille des Poxviridae se compose de 2 sous-familles, les Entomopoxvirinae et les Chordopoxvirinae. Les Chordopoxvirinae sont divisés en 11 genres auxquels s'ajoutent les virus en attente de classement. Les Chordopoxvirinae peuvent infecter un très grand nombre de vertébrés ; des infections chez l'être humain ont été rapportées pour 5 genres, dont 4 le plus fréquemment (genres Molluscipoxvirus, Yatapoxvirus, Parapoxvirus et Orthopoxvirus). Ils sont responsables d'infections cutanées bénignes (Orf par exemple) ou pouvant être mortelles (variole par exemple).

Les enjeux de santé publique liés aux orthopoxvirus pathogènes sont de deux ordres : le premier concerne le risque potentiel de réémergence de la variole, le deuxième concerne l'émergence des autres orthopoxviroses comme le monkeypox et le cowpox causés par le contact avec les rongeurs infectés, certains animaux domestiques et facilités par l'absence d'immunité croisée depuis l'arrêt de la vaccination antivariolique.

Le CNR-Laboratoire Expert développe ses capacités d'expertise afin d'identifier et de caractériser les souches qui lui sont adressées. Le CNR-Laboratoire Expert s'attache à diagnostiquer en plus des orthopoxvirus, les parapoxvirus, les molluscipoxvirus ainsi que les yatapoxvirus. L'isolement des souches est réalisé dans les laboratoires de niveau de confinement adéquat, le CNR-Laboratoire Expert disposant d'un accès à des laboratoires de niveau de confinement 2, 3 et 4.

Afin d'inscrire son activité dans une démarche qualité, le CNR a fourni un important travail de mise en œuvre des exigences de la norme ISO EN 15189. Il est accrédité depuis le mois de décembre 2017 sous le numéro 8-4084.

Parallèlement aux activités d'expertise et de conseil, le CNR-LE mène des recherches finalisées et plus amont, en particulier pour l'amélioration des technologies de diagnostic et le développement de moyens prophylactiques et thérapeutiques. La polymérase et les protéines du complexe de réplication en tant que cibles de traitement antiviral sont étudiées en priorité. Parmi les moyens de lutte, la validation de vecteurs vaccinaux se poursuit.

The Poxviridae family consists of 2 subfamilies, Entomopoxvirinae and Chordopoxvirinae. Chordopoxvirinae are divided into 11 genera plus viruses awaiting classification. Chordopoxvirinae can infect a very large number of vertebrates; infections in humans have been reported for 5 genera, of which 4 are the most frequent (genera Molluscipoxvirus, Yatapoxvirus, Parapoxvirus and Orthopoxvirus). They are responsible for benign cutaneous infections (Orf for example) but some can cause death (smallpox for example).

The public health challenge related to pathogenic orthopoxviruses is first linked to the potential risk of re-emergence of smallpox, and secondly to the emergence of other orthopoxviral diseases such as monkeypox and cowpox caused by contact with infected rodents, domestic animals and facilitated by the absence of cross-immunity since the end of the smallpox vaccination.

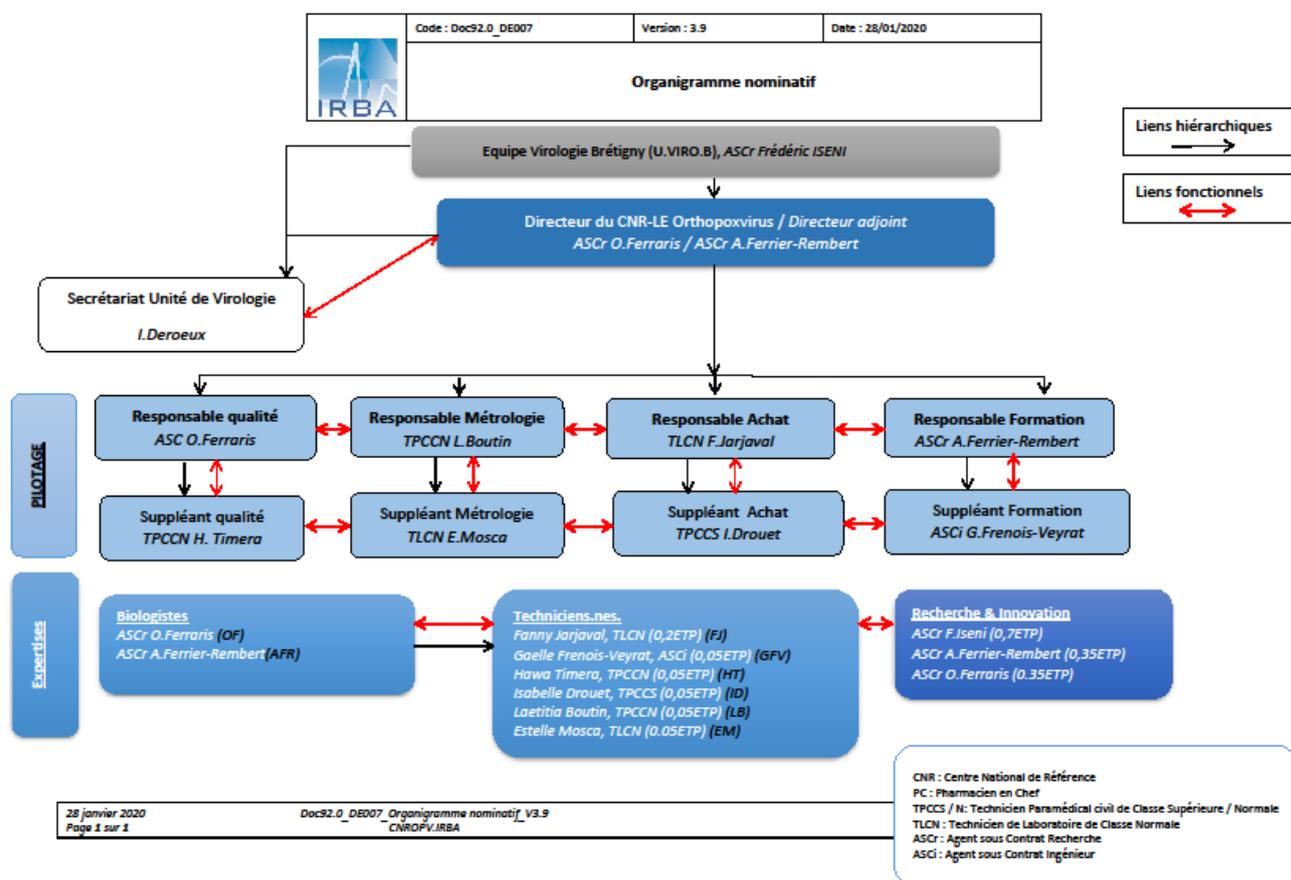
The CNR-LE develops its expertise in order to identify and characterize the strains that are addressed to it. The CNR-LE develops a capacity to diagnose parapoxviruses, molluscipoxviruses and yatapoxviruses in addition to orthopoxviruses. The isolation of the strains is carried out in laboratories with adequate containment level, the CNR-LE having access to biological safety level 2, 3 and 4 laboratories.

In order to register its activity in a quality approach, the CNR-LE worked hard to implement the requirements of the ISO EN 15189 standard. It was accredited in December 2017 under number 8-4084.

In addition to these expertise activities, the CNR-LE conducts research, particularly for the improvement of diagnostic technologies and the development of prophylactic and therapeutic means. Polymerase and replication complex proteins are studied as targets for antiviral treatment. For prophylaxis, the validation of vaccine vectors continues.

1 Missions et organisation du CNR

1.1 Organigramme



Pas de changement en 2020, les docteurs Olivier Ferraris et Audrey Ferrier-Rembert sont respectivement maintenus aux postes de Directeur et de Directeur adjoint du CNR LE Orthopoxvirus.

1.2 Cahier des Charges

Le CNR-Laboratoire Expert Orthopoxvirus s'engage à assurer les missions définies par le décret n° 2016-806 du 16 juin 2016 relatif aux centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles et par l'arrêté du 16 juin 2016 fixant le cahier des charges des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles.

Le CNR-Laboratoire Expert Orthopoxvirus a pour missions d'assurer l'expertise biologique, par l'identification et la caractérisation des souches virales, en fournissant un appui aux laboratoires hospitaliers par la confirmation du diagnostic, d'assurer un conseil en signalant à l'agence nationale de santé publique tout événement inhabituel (Organisation du CNR Laboratoire Expert en Annexe 1).

1.3 Démarche Qualité

Le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus est accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du Cofrac sous le numéro 8-4084.

La visite de ré-évaluation (SH-20-0446-1) a eu lieu en novembre 2020.

A l'issue de l'évaluation, l'équipe d'évaluation a exprimé sa confiance dans les compétences techniques et organisationnelles du laboratoire pour réaliser les examens de sa portée d'accréditation actuelle en conformité avec les exigences d'accréditation.

1.4 Enjeux de santé publique

Parallèlement aux activités d'expertise et de conseil, le CNR-LE mène des recherches finalisées et plus amont, en particulier pour l'amélioration des technologies de diagnostic et le développement de moyens prophylactiques et thérapeutiques. La polymérase et les protéines du complexe de réplication en tant que cibles de traitement antiviral sont étudiées en priorité.

L'activité de l'année 2020 a été fortement impacté par la crise COVID. Le Laboratoire a participé à l'effort de diagnostic SARS CoV-2 en appui pour les forces armées, de mars 2020 à mars 2021.

Le CNR LE Orthopoxvirus a maintenu parallèlement son activité. Deux cas d'infection par un virus du genre parapoxvirus ont ainsi été diagnostiqués, ainsi que deux cas d'infection par un virus du genre molluscipoxvirus ont été diagnostiqué.

2 Activités d'expertise

2.1 **Éléments clefs de l'année en termes de production d'expertise**

Récapitulatif du nombre de dossiers traité (=nombre de cas) et du nombre de prélèvements traités pour chaque cas.

	Nombre de cas	Nombre de Prélèvements
2020	14	21

Récapitulatif des prescriptions traitées.

	Prescription
Orthopoxvirus	5
Parapoxvirus	6
Molluscipoxvirus	3

2.2 **Évolutions des techniques**

La description des techniques disponibles au CNR est présentée dans l'annexe 2.

2.3 **Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse**

Validation du kit de détection VAR POX produit par la pharmacie centrale des Armées.

Validation du kit de détection COVID-19 par Lamp PCR (projet easycov)

2.4 **Techniques transférées vers d'autres laboratoires**

NA.

Le CNR LE OPV n'a pas transféré de techniques au cours de l'année 2020.

2.5 **Collections de matériel biologique**

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

2.6 **Activités d'expertise**

Tableau de synthèse des activités d'expertises 2020.

Le tableau indique le nombre de fiches de données réceptionné dans la colonne « n suspicion » et les cas confirmés dans les colonnes « OPV ; PPV ; MCV »

Le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus a confirmé les suspicions d'infection par un parapoxvirus pour 2 cas et par un molluscipoxvirus pour 2 cas.

Département (Région)				
	n suspicion	OPV	PPV	MCV
	2020	2020	2020	2020
21-Côte d'or (Bourgogne)	1		1	
24-Dordogne (Nouvelle Aquitaine)	1		1	
33-Gironde (Nouvelle Aquitaine)	1			1
34-Hérault (Occitanie)	1			
35-Ile et Vilaine (Bretagne)	3			1
38- Isères (Auvergne-Rhône Alpes)	1			
56-Morbihan (Bretagne)	1			
66-Pyrenees orientales (Occitanie)	2			
80-Somme (Haut de France)	1			
87-Haute Vienne (Nouvelle Aquitaine)	2			

Légende : OPV= Orthopoxvirus ; PPV = Parapoxvirus ; MCV = Molluscipoxvirus.

Délai moyen de restitution des résultats du CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus aux laboratoires
Le délai moyen de restitution des résultats est de **8** jours.

2.7 Activités de séquençage

Pas d'activité de séquençage en l'absence d'isolats orthopoxvirus.

3 Activités de surveillance

En 2020, le CNR-Laboratoire Expert a traité 14 expertises, pour répondre à des suspicions d'infections par des orthopoxvirus, des parapoxvirus ou des molluscipoxvirus.

Les demandes ont émané de 10 départements, et ont conduit à la confirmation d'infection pour 4 expertises

Le CNR-Laboratoire Expert a été le support technique pour le diagnostic COVID-19 mis en place au sein de l'IRBA. 8300 prélèvements ont été traités durant l'année 2020.

3.1 Description du réseau de partenaires

- Description des partenaires
 - o Dans le cadre de l'activité de diagnostic
- SANTE PUBLIQUE France, Direction des maladies infectieuses pour la gestion des suspicions orthopoxvirus et l'enregistrement des déclarations obligatoires lors de la confirmation d'infection par un orthopoxvirus.
- Les Centres Hospitaliers Universitaires (CHU), Centres Hospitaliers Régionaux (CHR), Centres Hospitaliers Universitaires Intercommunal (CHI), et laboratoires de biologies médicales métropolitains et outre-mer.
 - o Dans le cadre de l'activité de recherche
- Unité des Virus Emergents (UVE : Aix Marseille Univ, IRD190, INSERM1207, IHU Méditerranée Infection), 13005 Marseille, France.
- CIBU, Institut Pasteur 25-28 rue du Docteur Roux – 75724 Paris Cedex 15 – France.
- Répartition géographique

Figure : Carte de France représentant les départements des Hôpitaux prescripteurs en 2020



1. Absence de détection d'infection due à un orthopoxvirus.
2. Mise en évidence de 2 cas d'infections due à un parapoxvirus, en régions Nouvelle Aquitaine et Bourgogne.
3. Mise en évidence de 2 cas d'infection due à un molluscipoxvirus, en régions Nouvelle Aquitaine et Bretagne.

-Evolution du réseau

L'année 2020 montre une évolution dans la couverture du réseau puisque 5 prescriptions sont originaires de nouveaux département (étoiles jaune).

- Définition de l'échantillon

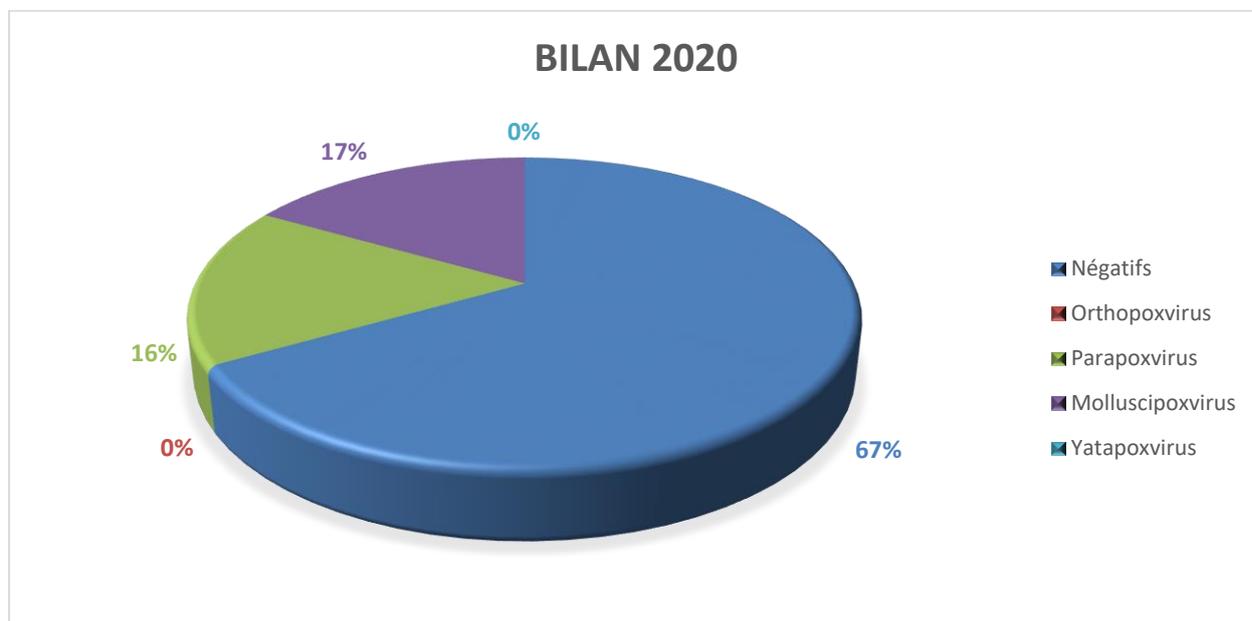
Le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus a reçu 21 prélèvements.

Les prélèvements reçus sont soit :

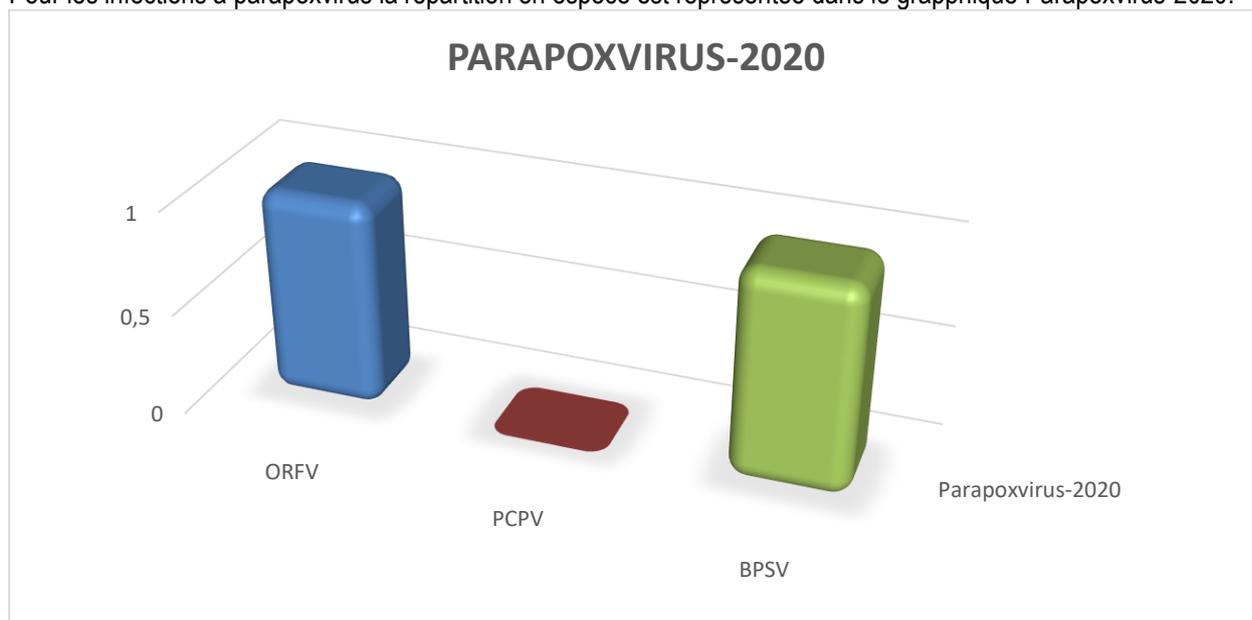
- Des écouvillons (4/21),
- Des écouvillons + UTM (2/21),
- Des biopsies (10/21),
- Du sang total (3/21),
- Des sérums (2/21),

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Au cours de l'année, 67% des suspicions ont été négatives, aucun cas d'infection à *orthopoxvirus* n'a été détecté. Les 2 cas de *parapoxvirus* représentent 16% des expertises traitées, et les cas d'infection à *molluscipoxvirus* représente 17% des expertises traitées (graphique : Bilan 2020).



Pour les infections à parapoxvirus la répartition en espèce est représentée dans le graphique Parapoxvirus-2020.



ORFV, PCPV = PseudoCowpoxvirus, BPSV = Bovine papular stomatitis virus.

Description des cas :

Orthopoxvirus : NA

Molluscipoxvirus : Pour les deux cas le siège des lésions cutanée était le visage. Les deux cas ont été rapportés pour des adultes.

Parapoxvirus : Pour le premier cas confirmé, le virus appartenait à l'espèce BPSV (Bovine Papular Stomatitis virus). L'infection a eu lieu dans le cadre d'une activité professionnelle avec un contact avec des veaux. Pour le second cas, le virus appartenait à l'espèce ORFV (ORF virus).

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

NA

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France par la déclaration de cas confirmés d'infection à orthopoxvirus le cas échéant ;

Participation à l'exercice européen UNSGM projet RefBio, organisé par l'institut Robert Koch. L'exercice portait cette année sur la capacité de détection du SARS-CoV-2.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

NA en l'absence d'isolats orthopoxvirus.

4 Alerte

NA en l'absence d'isolats orthopoxvirus.

5 Activités de rétro-information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

- Les informations concernant le CNR-Laboratoire Expert Orthopoxvirus sont accessibles sur le site :
- <https://www.defense.gouv.fr/sante/notre-expertise/les-centres-nationaux-de-referance-cnr/centre-national-de-referance-le-des-orthopoxvirus>

- Les documents accessibles sont :
 - o Fiche Patient : Fiche envoyée systématiquement avec tout échantillon.
 - o Contrat Clinico-Biologique
 - o Fiche Conseil Prélèvement
 - o Rapports d'activité 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019.
 - Actualisation annuelle des documents.

- Depuis fin 2017, ces informations sont également disponibles sur le portail militaire :
 - o <http://portail.sante.defense.gouv.fr/ets-recherche/irba> (réseau militaire);

- Il est possible de contacter le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus par
 - o Téléphone : 06 03 87 58 59
 - o Courriel : irba-cnropv.accueil.fct@def.gouv.fr
 - o

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Participation au Diagnostic COVID-19

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

NA

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

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

- (i) Détection Ag Orthopoxvirus :
 - a. Objectif : Disposer d'un test ELISA permettant la mise en évidence d'anticorps anti-orthopoxvirus virus dans des sérums.
 - b. Les premiers tests permettent de vérifier la spécificité et la sensibilité du test en fonction de l'antigène de coating.
- (ii) Criblage de molécules antivirales :
 - a. Objectif : Caractérisation de molécules antivirales ciblant le complexe de réplication du virus de la vaccine.

Le succès de la campagne d'éradication du virus de la variole par l'OMS et l'abandon progressif de la vaccination font craindre une possible utilisation de ce virus comme arme biologique. En cas d'attaque, la vaccination antivariolique ne représenterait pas une solution satisfaisante car le vaccin disponible est responsable de complications sévères, voire mortelles et la fenêtre de vaccination de la population est très étroite. Concernant les antiviraux, deux molécules (le Tecovirimat et le Brincidofovir) ont été approuvées par la FDA, en 2018, pour le traitement des infections à orthopoxvirus. Malheureusement, aucune de ces molécules n'est disponible en France. Ainsi ces dernières années, de nombreux travaux fortement encouragés par l'OMS ont été initiés pour sélectionner de nouvelles molécules contre les poxvirus.

Les protéines essentielles du complexe de réplication de l'ADN des poxvirus sont des cibles de choix pour obtenir des inhibiteurs spécifiques de la multiplication virale (Figure 1). L'ADN polymérase E9, l'uracile ADN glycosylase D4 l'hélicase/primase D5 et la protéine A20 du virus de la vaccine (VACV) présentent 98% de similarité avec les protéines correspondantes du VARV. Il est donc admis qu'un composé inhibant le VACV inhibera également le VARV (virus avec lequel il est interdit de travailler au laboratoire compte tenu des conventions internationales).

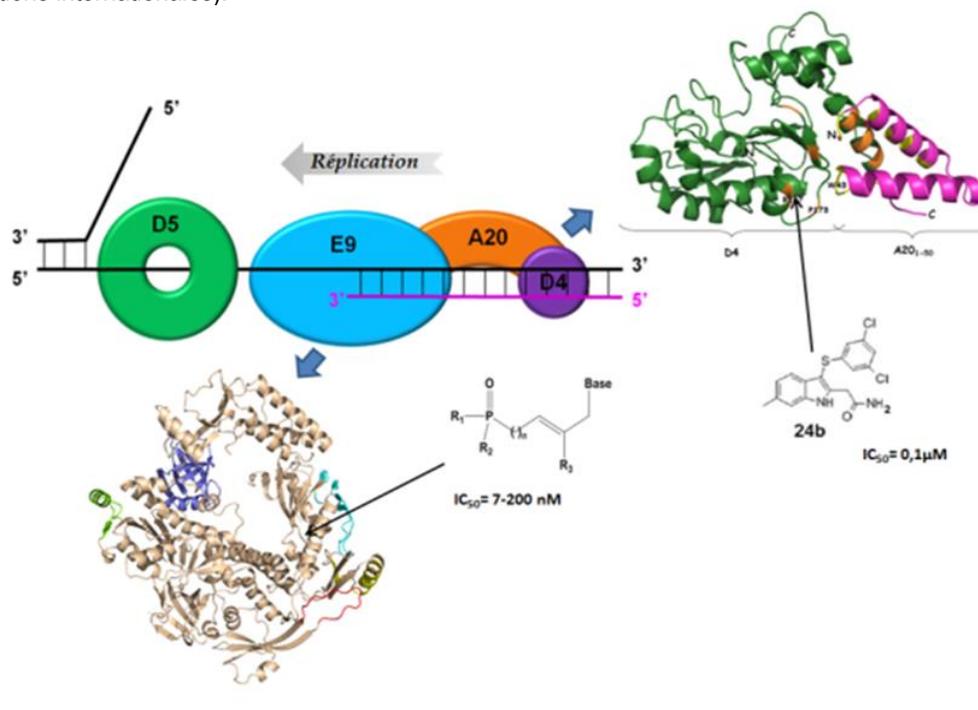


Figure 1 : Représentation schématique du complexe de réplication des orthopoxvirus

La structure cristallographique de l'ADN polymérase E9 et de A20/D4 sont montrées.

Au cours de ces dernières années, un effort majeur a été réalisé par notre équipe (en collaboration avec l'équipe du Pr Burmeister, IBS, Grenoble) afin d'obtenir un maximum d'informations structurales sur le complexe A20/D4/E9. Ce travail a abouti à des structures qui nous permettent maintenant de développer, en collaboration avec les chimistes du groupe du Pr. Agrofoglio (Université d'Orléans), des molécules ciblant les protéines du complexe de réplication (Figure 1).

b. *Objectif* : Caractérisation d'un nouveau nucléoside acyclique ciblant l'ADN polymérase des poxvirus

L'équipe du Pr Agrofoglio a synthétisé un nouveau nucléoside phosphonate acyclique dont le pouvoir inhibiteur a été démontré sur plusieurs virus à ADN. Cette découverte est protégée par un brevet. Au laboratoire nous avons montré que le composé inhibe le VACV en culture cellulaire avec une EC50=0,2 µM. L'hypothèse la plus favorable quant au mode d'action de cette molécule, est qu'elle cible l'ADN polymérase des virus à ADN et inhibe la synthèse du génome viral (Figure 1). Toutefois, cette hypothèse n'a pas encore été formellement démontrée. Nous avons donc, dans un premier temps, tenter de confirmer que la molécule cible bien l'ADN polymérase des poxvirus, en essayant d'obtenir des virus résistants au composé. Pour cela, des cellules ont été infectées avec le VACV en présence de la drogue à une concentration correspondant à 2 fois l'EC50. Les virus qui se répliquent dans ces conditions ont été utilisés pour réinfecter de nouvelles cellules, en présence de la molécule dont la concentration a été augmentée graduellement. Des virus résistants qui se répliquent (en présence de la molécule) comme le virus sauvage (en absence de composé) ont été obtenus, après environ 20 passages. Nous avons séquencé le gène E9L (codant l'ADN polymérase du virus) de 9 clones obtenus indépendamment. Chacun de ces virus portent une mutation unique (en position 356 ou 377) qui semble responsable du phénotype de résistance. Il est intéressant de noter que les mutations sélectionnées au niveau de l'ADN polymérase sont différentes de celles obtenues avec le cidofovir, dont le brincidofovir est dérivé et qui est aussi un nucléoside phosphonate acyclique.

Au cours de ce projet nous avons également déterminé le pouvoir inhibiteur de la molécule sur le MPXV qui est l'orthopoxvirose à plus haut risque de transmissibilité à l'homme avec une mortalité pouvant atteindre jusqu'à 10% des cas. Pour cela, des cellules Vero ont été infectées, en laboratoire NSB3, par le MPXV en présence de différentes concentrations de molécule. L'EC50 de la molécule pour le MPXV est comparable à celle obtenue pour le VACV (EC50=0,2 µM). Les données obtenues sont très importantes dans l'optique de tester, dans le futur le composé sur un modèle murin de l'infection par la variole qui consiste à infecter des souris CAST/EiJ avec le MPXV.

c. *Objectif* : Caractérisation d'une molécule inhibant l'interaction entre A20 et D4, le co-facteur de l'ADN polymérase virale du virus de la vaccine.

Au cours des dernières années, nous avons obtenu la structure cristallographique de l'interface entre A20 et D4 le co-facteur de l'ADN polymérase du VACV. La molécule 24b (Figure 1) qui a été sélectionnée in silico pour se positionner à l'interface entre A20 et D4 a la capacité d'inhiber le VACV en culture cellulaire. L'objectif de l'étude est de déterminer précisément comment ce composé se positionne à l'interface entre A20 et D4. Etant en mesure de reformer le complexe D4/A20 in vitro, nous essayons, dans un premier temps, de déterminer si la molécule est capable d'inhiber la formation du complexe. L'assemblage (ou non) de l'hétérodimère est observé sur colonne de gel filtration. Des expériences de titration calorimétrique isotherme (ITC) sont également envisagées afin de déterminer, si comme attendu, cette molécule interagit avec D4. Ces expériences sont aisées à mettre en place puisque de nombreuses constructions ont été produites au cours de nos différents travaux. L'expression des protéines A20 et D4 (en bactérie) seules ou en complexe est parfaitement maîtrisée au laboratoire.

A terme il est envisagé d'être en mesure de co-cristalliser la protéine D4 avec la molécule 24b. Cette structure permettrait de visualiser précisément le mode d'interaction de la molécule avec sa cible et d'envisager de la modifier pour améliorer son interaction. Au cours de ce projet il est également envisagé de caractériser cette molécule en culture cellulaire afin d'évaluer son pouvoir inhibiteur sur le MPXV en laboratoire P3.

Publication au cours des 5 dernières années :

- 1- W.P. Burmeister, N. Tarbouriech, P. Fender, C. Contesto-Richefeu, C.N. Peyrefitte, F. Iseni. (2015). J Biol Chem., 290, 17923-34.
- 2- S. Hutin, W.L. Ling, A. Round, G. Effantin, S. Reich, F. Iseni, N. Tarbouriech, G. Schoehn, W.P. Burmeister. (2016). J Virol., 90, 4604-13.
- 3- C. Contesto-Richefeu, N. Tarbouriech, X. Brazzolotto, W.P. Burmeister, C.N. Peyrefitte, F. Iseni. (2016). Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun., 72, 687-91.
- 4- N. Tarbouriech, C. Ducourmau, S. Hutin, P.J. Mas, P. Man, E. Forest, D.J. Hart, C.N. Peyrefitte, W.P. Burmeister, F. Iseni. (2017). Nat Commun., 8(1):1455.
- 5- D.Delaune, F. Iseni, A. Ferrier-Rembert, CN. peyrefitte, O. Ferraris. (2017). Viruses., 10(1). pii: E3.

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

6- D. Delaune, F. Iseni. (2020). Antimicrob Agents Chemother., 64, 1683.

7- B. Bersch, N. Tarbouriech, W. Burmeister, F. Iseni. (2021). J.Mol.Biol. 167009.NA.

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux

NA.

8 Programme d'activité pour les années suivantes

- (i) Dans le cadre des activités de recherche de l'unité RS2GP (Rongeurs sauvages, risques sanitaires et gestions des populations) de VetAgro Sup, un échantillonnage d'Arvicola terrestres va être réalisé sur deux campagnes (2021/2022).
 - a. Le CNR LE Orthopoxvirus va participer à définir le statut de cette espèce vis-à-vis d'un panel d'agents zoonotiques en réalisant la recherche d'infection par un orthopoxvirus.
- (ii) Poursuite de l'activité de criblage de molécules antivirales.

Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Les enjeux de santé publique liés aux orthopoxvirus sont de deux ordres : le premier concerne le risque potentiel et gravissime de réémergence de la variole, le deuxième concerne l'émergence d'autres orthopoxviroses pathogènes pour l'homme comme le virus monkeypox et le virus cowpox transmis par contact avec des rongeurs infectés. L'impact de ce type d'infection se trouve facilité par l'absence d'immunité pour la population née après l'arrêt de la vaccination antivariolique.

L'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) héberge le centre national de référence des orthopoxvirus depuis le mandat 2012-2016 (arrêté ministériel en date du 26 décembre 2011 fixant la liste des centres nationaux de référence).

En réponse à l'appel à candidature pour la nomination des CNR pour le mandat 2017-2021 lancé le 20 Juin 2016 par l'Agence nationale de santé publique, l'IRBA s'engage à poursuivre les missions d'expertises et de conseils.

Depuis 2012, le CNR a étendu sa capacité de diagnostic, d'identification et de caractérisation aux parapoxviroses, molluscipoxviroses et yatapoxviroses, afin répondre aux sollicitations des laboratoires hospitaliers en terme de diagnostic de dermatoses infectieuses. Pour le mandat à venir, l'équipe souhaite poursuivre ses efforts dans le domaine de la caractérisation virale en s'appuyant sur ses nouvelles infrastructures de Brétigny sur Orge, en particulier, par le développement des techniques de séquençage et de microscopie électronique appliqués aux orthopoxvirus. Son engagement dans une démarche qualité afin d'intégrer les exigences de la norme ISO EN 15189 est à corroborer avec le souhait de l'équipe candidate de proposer une expertise de qualité avec une capacité accrue de transfert de techniques de détections validées.

Le CNR-Laboratoire Expert Orthopoxvirus continuera de s'appuyer sur la recherche finalisée et amont de l'IRBA. Les programmes, mis en place durant le mandat 2012-2016, d'évaluation des procédures d'inactivation des agents pathogènes et d'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux se poursuivront au cours du mandat 2017-2021. Les travaux de recherche sur la polymérase virale des orthopoxvirus se poursuivent avec une activité de transfert des résultats pour l'élaboration de nouvelles molécules candidates anti-virales qui seront testés dans le programme d'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux.

Son organisme de tutelle, l'IRBA, facilitera les missions du CNR Laboratoire Expert en matière de conseils, de transfert de compétence.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Le centre national de référence – Laboratoire expert orthopoxvirus s'appuie sur l'unité de virologie du département de microbiologie et maladies infectieuses de l'IRBA.

Par arrêté de la ministre des solidarités et de la santé en date du 15 mars 2018, les docteurs Audrey Ferrier-Rembert et Olivier Ferraris sont autorisés à exercer en France les fonctions de biologiste médical dans le domaine de spécialisation du centre national de référence concerné (mention: bactériologie-virologie) et pour la période limitée à l'exercice de la fonction de directeur ou de directeur adjoint d'un centre national de référence en application des dispositions de l'article L.6213-2 (3o) du code de la santé publique.

Le docteur Olivier Ferraris exerce la fonction de directeur.

Le docteur Audrey Ferrier-Rembert exerce la fonction de directeur adjoint.

L'ingénieur de recherche ainsi que les cinq techniciennes exercent les fonctions techniques par rotation (2 astreintes de 1 mois par année civile).

1.3 Locaux et équipements

L'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA) héberge le centre national de référence des orthopoxvirus. Les locaux du CNR LE OPV se situent donc à Brétigny sur Orge.

Le CNR LE OPV a accès aux laboratoires confinés de l'IRBA et disposent de pièces spécifiques en LSB2 (20 m²), en LSB3 (20 m²) et LSB4.

Les principaux équipements du CNR LE OPV sont :

PSM de type II Etuves Réfrigérateur Congélateur Surgélateur	Broyeur de tissus Centrifugeuses Microscopes Thermocyclers Lecteur ELISA
---	--

1.4 Collections de matériel biologique

Les collections sont stockées selon la réglementation des MOT et des BPL, dans des congélateurs mis sous alarme localisés dans des pièces à accès restreint.

Le CNR laboratoire Expert Orthopoxvirus tient à disposition les souches de référence de sa collection, ainsi que des souches cliniques de géotypes bien caractérisés, dans le cadre d'une autorisation de l'IRBA et de SPF ainsi que toute autorité supérieur.

Le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus tient à disposition les références de la technique de diagnostic Orthopoxvirus/Variole.

La collection est enrichie annuellement à partir des isolements réalisés à partir des prélèvements pathologiques.

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus est accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du Cofrac sous le numéro 8-4084. Les compétences techniques et organisationnelles du laboratoire pour réaliser les examens de sa portée d'accréditation actuelle ont été considéré en conformité avec les exigences d'accréditation.

Le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus participe annuellement à des contrôles qualité externe. En 2020, le CNR Laboratoire Expert Orthopoxvirus a participé à l'EQAE 2020 UNSGM RefBio Virus Coronavirus PCR & NGS.

Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

Genre/Espèce	Capacité de détection	Méthode de détection	Accréditées
Orthopoxvirus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage – Isolement –Microscopie Electronique	PCR TempsRéel-2018
Variola virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	PCR TempsRéel-2018
Monkeypox virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	
Cowpox virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	
Vaccinia virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	
Ectromelia virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage – Isolement	
Camelpox virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage – Isolement	
Molluscipoxvirus			
Molluscum contagiosum	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage	
Parapoxvirus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage – Isolement - Microscopie Electronique	PCR TempsRéel-2018
Orf virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	
Pseudocowpox virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	
Bovine Papular Stomatitis virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	
Yatapoxvirus			
Tanapoxvirus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	
Yaba-like disease virus	Oui	PCR TempsRéel – Séquençage - Isolement	

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

La technique de diagnostic différentielle Orthopoxvirus/Variola recommandées par le CNR-LE OPV

Genre/Espèce	Capacité de détection	Méthode de détection	Accréditées
Orthopoxvirus	Oui	PCR TempsRéel– Séquençage – Isolement –Microscopie Electronique	qPCR-2018
Variola virus	Oui	PCR TempsRéel– Séquençage - Isolement	qPCR-2018

Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)

3.1 Permanence du CNR ¹

Confirmer l'envoi par courriel ou par téléphone.

CNR-LE –Orthopoxvirus, Institut de Recherche Biomédicale des Armées
Département de Microbiologie et Maladies Infectieuses (2MI), Unité Virologie
1 Place Valérie André 91220 Brétigny sur Orge

- Personne(s) à contacter en cas d'urgence en dehors de ces horaires :
 - o Directeur du CNR LE Orthopoxvirus : Olivier Ferraris
 - o Adjoint du directeur du CNR LE Orthopoxvirus : Audrey Ferrier-Rembert
 1. Téléphone d'astreinte : 06 03 87 5859
 2. Téléphone Bureau : 01 78 65 1048
 3. Téléphone secrétariat du Département 2MI : 01 78 65 10 99

Courriel : irba-cnropv.accueil.fct@def.gouv.fr

3.2 Autorisations MOT ²

- Les établissements du ministère des armées sont dispensés uniquement des autorisations de détention, de mise en œuvre.
- L'Officier Supérieur de Sécurité de l'IRBA assure le contrôle interne et l'application de la réglementation relative aux stocks en Micro-Organisme et toxines (MOT) détenus par les différents sites de l'IRBA

3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale

Directeur du CNR :

Arrêté du 15 mars 2018 fixant la liste des personnes autorisées à exercer en France les fonctions de biologiste médical dans un domaine de spécialisation en application des dispositions de l'article L.6213-2 (3^e) du code de la santé publique.

NOR : SSAN1807862A

Domaine de spécialisation: agents infectieux. Mention: bactériologie-virologie.

Directeur adjoint :

Arrêté du 15 mars 2018 fixant la liste des personnes autorisées à exercer en France les fonctions de biologiste médical dans un domaine de spécialisation en application des dispositions de l'article L.6213-2 (3^e) du code de la santé publique.

NOR : SSAN1807861A

Domaine de spécialisation: agents infectieux. Mention: bactériologie-virologie.

3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo

NA

3.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition des budgets MIGAC ou Santé publique France (texte libre)

- Participation au soutien technique du diagnostic COVID-19.

3.6 Autres remarques à destination du comité des CNR (texte libre)

NA

¹ Ces informations seront conservées exclusivement par Santé publique France aux seules fins de contacter un CNR en cas d'urgence ; elles ne seront pas rendues publiques.

² Micro-Organismes et Toxines de la liste prévue à l'article R. 5139-1 du code de la santé publique. La liste des MOT est actuellement fixée par l'arrêté du 30 avril 2012 modifié par les arrêtés du 6 novembre 2014 et par l'arrêté du 2 octobre 2015.