



RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITE 2024

Année d'exercice 2023

CNR Orthopoxvirus

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire CNR	Institut de Recherche Biomédicale des Armées	Olivier FERRARIS
Laboratoire Associé	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.
Laboratoire Associé	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.
Laboratoire Associé	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.
Laboratoire Associé	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.	Cliquez ou appuyez ici pour entrer du texte.

GUIDE DE REMPLISSAGE

Conformément à l'arrêté du 2 mars 2022 fixant leur cahier des charges, les Centres Nationaux de Référence (CNR) sont tenus de transmettre chaque année un rapport annuel portant sur l'activité du CNR pour l'année « N » à Santé publique France avant la fin du premier semestre de l'année « N+1 ». Ce rapport doit être conforme au rapport-type national défini par le Comité des CNR aux fins de définir un cadre de présentation homogène des activités du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.

Si le CNR comporte un ou plusieurs laboratoires associés, le CNR – Laboratoire coordonnateur doit présenter un rapport commun faisant la synthèse des activités des laboratoires concourant aux missions du CNR.

Ce rapport décrit les activités du CNR et produit une analyse des données recueillies au cours de l'année « N ». Il doit être concis, éviter les redondances, privilégier les illustrations pour les résultats (graphes, cartes, tableaux). Il s'agit de fournir un travail de synthèse mettant en exergue les points forts du bilan d'activité de l'année.

Ce rapport doit inclure un résumé analytique, en français et en anglais, de 300 mots maximum (2700 caractères) destiné à être publié sur le site de Santé publique France.

Ce rapport comporte 3 annexes, regroupées à la fin du document :

- Les annexes 1 et 2 ont pour objet de rappeler les missions et l'organisation du CNR d'une part, ses capacités techniques d'autre part. Ces éléments sont pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature. Seuls les éléments nouveaux (changement d'organisation, de locaux, nouvelles capacités ...) doivent figurer dans le corps du rapport.
- L'annexe 3 regroupe des informations confidentielles, à l'attention de Santé publique France et de son Comité des CNR, non destinées à être rendues publiques : permanence du CNR, détenteurs d'autorisations MOT (Micro-Organismes et Toxines), détenteurs d'autorisations d'exercer la biologie médicale (AEBM), résultats de recherche non encore publiés ou sous embargo, difficultés rencontrées, liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR (cf déclarations d'intérêts et engagement déontologique signé par les responsables des CNR (en précisant la nature des activités, les financements éventuels obtenus et la destination de ces financements). Cette annexe 3 doit figurer dans un document PDF distinct ou être détachable de la version papier fournie.

Il vous est demandé de respecter rigoureusement ce plan-type qui concorde avec celui de la grille d'évaluation utilisée par les experts du Comité. A l'exception de son annexe 3, ce rapport annuel d'activité a vocation à être publié sur le site web du CNR.

NB : Les contrôles de contenus insérés dans la matrice du document sont supprimés dès que vous commencez la saisie, ils rappellent ce qui est attendu par les experts du Comité des CNR

Guide de remplissage	2
Résumé analytique	5
Faits marquants	5
Executive summary	6
Highlights	6
1. Missions et organisation du CNR	7
Organigramme	7
Mission et Organisation	7
Démarche Qualité	8
2. Activités d'expertise	9
2.1 Evolution des techniques	9
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse	9
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	9
2.4 Collections de matériel biologique	9
2.5 Activités d'expertises	11
2.6 Activités de séquençage	12
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	13
3. Activités de surveillance	14
3.1 Description du réseau de partenaires	14
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	15
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	16
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	17
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	17
4. Alertes	18
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	19
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	19
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	19
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	19
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	20
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	20
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	22

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux.....	24
8. Programme d'activité pour les années suivantes	25
1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	26
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	26
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.....	26
1.3 Locaux et équipements	27
1.4 Collections de matériel biologique.....	27
1.5 Démarche qualité du laboratoire	28
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR.....	29
2.1 Liste des techniques de référence.....	29
2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR	29
3. Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)	30
3.1 Permanence du CNR	30
3.2 Autorisations MOT	30
3.3 Autorisations d'exercer la biologie médicale	31
3.4 Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo.....	31
3.5 Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France.....	31
3.6 Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR.....	31
3.7 Autres remarques à destination du comité des CNR	31

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

L'interaction avec les partenaires publics et privés permet au CNR de réceptionner des échantillons à partir de toutes les régions.

Le CNR laboratoire expert orthopoxvirus a été sollicité au cours de l'année 2023, pour confirmer une suspicion d'infection à molluscipoxvirus dans 8% des cas, à parapoxvirus dans 29% des cas, et à orthopoxvirus dans 59% des cas. La demande de confirmation de suspicion d'infection à orthopoxvirus était dans 57% des cas en lien avec une demande monkeypoxvirus. Parallèlement, le CNR a été destinataire de 51 cas dont le diagnostic MPXV avait été déclarée.

Le début de l'année 2023 a été marqué par la mise en évidence d'un cas groupé de Mpox, en région centre-Val de Loire, entre mi-janvier 2023 et fin mars 2023, dans un contexte de quasi absence de circulation du virus dans les autres régions.

Une analyse sérologique a été réalisée pour 4 cas de ce cas groupé qui avaient été vaccinés avant l'infection avec différents schémas vaccinaux. Aucun anticorps neutralisant la réplication virale n'a été mis en évidence dans les sérums des patients prélevés un mois avant l'infection.

A partir de mai 2023, une circulation à bas bruit a été observé avec un nombre mensuel de confirmation entre 1 et 4 cas.

A partir de Juillet 2023, en réponse à l'augmentation du nombre de cas observés au Portugal avec l'émergence d'une nouvelle sous-lignée du clade IIb, le CNR a déterminé le clade pour tous les cas Mpox confirmés.

Le séquençage du cas groupé de mars 2023, puis d'un échantillonnage par mois de prélèvement a permis la mise en évidence de la circulation exclusive du clade IIb, et de la co-circulation des sous-lignées B1, B1.5, B1.7 jusqu'en mars 2023, puis une circulation unique de la sous-lignée C1 avant une reprise de la co-circulation des sous-lignées B1 et C1 en décembre 2023.

L'ensemble des prélèvements non inactivés ont été mis en culture afin d'en isoler le virus.

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

Interaction with public and private partners enables the CNR to receive samples from all regions.

In 2023, the CNR orthopoxvirus expert laboratory was called upon to confirm suspected molluscipoxvirus infection in 8% of cases, parapoxvirus infection in 29% of cases, and orthopoxvirus infection in 59% of cases. The request for confirmation of suspected orthopoxvirus infection was linked to a monkeypoxvirus request in 57% of cases. At the same time, the CNR received 51 reports of MPXV.

The start of 2023 was marked by the detection of a cluster case of Mpox in the Centre-Val de Loire region, between mid-January 2023 and the end of March 2023, against a backdrop of virtually no virus circulation in other regions.

Serological analysis was carried out on 4 cases in this cluster, who had been vaccinated prior to infection with different vaccine regimens. No antibodies neutralizing viral replication were detected in the sera of patients sampled one month prior to infection.

From May 2023 onwards, low-noise circulation was observed, with a monthly number of confirmed cases ranging from 1 to 4.

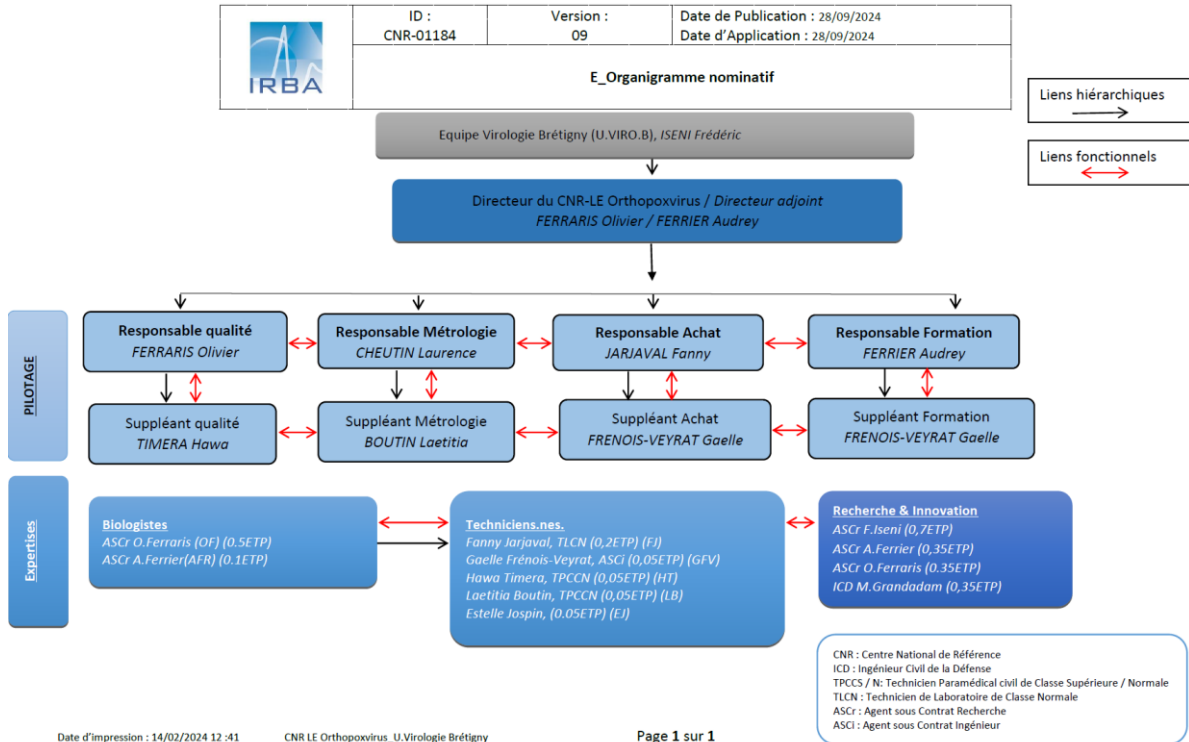
From July 2023, in response to the increase in the number of cases observed in Portugal with the emergence of a new clade IIb sublineage, the CNR determined the clade for all confirmed Mpox cases.

Sequencing of the March 2023 cluster case, followed by one sample per month of sampling, revealed exclusive circulation of clade IIb, and co-circulation of sublineages B1, B1.5, B1.7 until March 2023, followed by single circulation of sublineage C1 before resumption of co-circulation of sublineages B1 and C1 in December 2023.

All non-inactivated samples were cultured for virus isolation.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme



Les ETP présentés représentent le temps de chaque personnel consacré à l'activité de CNR.

Modifications 2023 :

_Départ de Madame Drouet, retour en novembre 2023 de Madame Mosca.

_Arrêt d'activité à partir de septembre 2023 de Madame Jarjaval.

_Modification de l'organisation du suivi du processus métrologie avec la prise en charge de la gestion des contrats, de l'organisation des interventions par Mme Cheutin, et la gestion de la récupération et l'interprétation des données par Mme Boutin.

_Modification de l'organisation du suivi du processus approvisionnement avec la prise en charge pour la gestion des achats par Madame Jarjaval et Madame Frenois-Veyrat.

Mission et Organisation

Il n'y a pas de modification dans la disponibilité des locaux avec un accès possible dans les niveaux de confinement, 1,2, 3 et 4.

Le CNR-LE orthopoxvirus s'appuie sur la présence de deux biologistes et de 4 techniciennes. La mise à disposition pour l'activité de diagnostic est hebdomadaire à raison d'un biologiste et d'une technicienne. La mise à disposition est uniquement déclenchée à la réception d'un échantillon. Le CNR-LE orthopoxvirus répond également pour les demandes de diagnostic non orthopoxvirus comme les demandes pour un diagnostic parapoxvirus, molluscipoxvirus.

Depuis septembre 2023, la détermination du clade des virus monkeypox est réalisée pour tous les échantillons monkeypoxvirus positifs.

Le traitement des demandes comme la sérologie ou le séquençage ne rentre pas dans la réponse de diagnostic patient mais dans une expertise complémentaire.

Démarche Qualité

Attestation d'accréditation n°8-4084 rév 4. Date de prise d'effet le 06/01/2023. Date de fin de validité le 28/02/2026.

Le CNR-LE orthopoxvirus n'a pas eu d'évaluation de surveillance en 2023.

2. Activités d'expertise

Les prescriptions reçues en 2023 se sont réparties sur des suspicions d'infections à *Molluscipoxvirus*, *Parapoxvirus* et *Orthopoxvirus*.

Pour les *Orthopoxvirus*, les demandes étaient principalement en lien avec une suspicion d'infection à *Monkeypox virus* (MPXV). Cependant, cette demande a été fortement réduite par rapport à l'année 2022.

Le CNR-LE OPV a été principalement destinataire d'échantillons déjà diagnostiqués « MPXV positif », cette réception a permis de suivre l'évolution de cas groupés en région Centre-Val de Loire de janvier à mars 2023. L'évolution de l'épidémie en République Démocratique du Congo en lien avec le virus MPXV de clade I a conduit le CNR-LE OPV à réaliser la détermination du clade des cas confirmés à partir de septembre 2023.

2.1 Evolution des techniques

Le CNR a finalisé la mise à jour de sa PCR « pan orthopoxvirus ». Cette dernière est aujourd'hui utilisée pour le diagnostic Orthopoxvirus.

Le CNR a finalisé un mode opératoire de séquençage avec la technologie Oxford Nanopore (Minlon). Des développements sont en cours pour améliorer les résultats à partir d'un échantillon clinique.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Pas d'évolution depuis le rapport 2022.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Pas d'évolution depuis le rapport 2022.

2.4 Collections de matériel biologique

Evolution de la collection biologique en 2023 :

1_ Collection biologique : Echantillons primaires

Origine	Quantité	Agent Infectieux
67	2	VACV
34-35-71-75-83	5	ORFV
29-30	3	MCV
35-59	3	CPXV
33-34-35-37-49-54-74-75-94	81	MPXV
33-37-54-75	15	MPXV
34-37-75	18	MPXV

VACV : Virus de la vaccine (genre *Orthopoxvirus*) ; ORFV : Virus ORF (genre *Parapoxvirus*) ; MCV : molluscum contagiosum (genre *Molluscipoxvirus*) ; CPXV : virus cowpox (*Orthopoxvirus*).

2_ Collection biologique : virus isolés

Agent Infectieux	Quantité
ORFV	2
CPXV	2
MPXV	37

2.5 Activités d'expertises

Bilan du nombre de dossiers réceptionné en 2023

Nous différencions la réception pour un diagnostic primaire de la réception d'échantillons dont le diagnostic est déjà réalisé. Cela s'applique principalement aux échantillons « MPXV positif ». Le tableau ci-dessous représente cette organisation de traitement.

BILAN 2023	
N Dossier* pour diagnostic primaire	51
N Dossier pour confirmation (MPXV positifs)	51

*Un dossier est créé par patient et regroupe tous les échantillons du patient. Un dossier de cas suivi correspond au regroupement des échantillons réceptionnés pour un patient à différentes dates.

Synthèse des types de prélèvements

Les fournisseurs sont les Centre Hospitaliers et les Laboratoires de biologie médicale métropolitain.

Origine	Prélèvements	Quantité	Agent Infectieux
67	SERUM	2	VACV
37	ADN	2	ORFV
34-35-71-75-83	CUTANEO-MUQUEUX*	5	ORFV
29-30	CUTANEO-MUQUEUX	3	MCV
35-59	CUTANEO-MUQUEUX	3	CPXV
33-34-35-37-49-54-74-75-94	CUTANEO-MUQUEUX	81	MPXV
33-37-54-75	OROPHARYNGE**	15	MPXV
34-37-75	SERUM	18	MPXV

*Cutanéo-muqueux : prélèvement direct sur lésions cutanées à l'aide d'un écouvillon et conservation dans un milieu de transport universel, ou réalisation d'une biopsie pour un transport en tube sec.

**Oropharyngé : prélèvements au niveau de la bouche, gorge à l'aide d'un écouvillon et conservation dans un milieu de transport universel.

Délai de restitution

Le délai moyen de restitution est de 3 jours.

2.6 Activités de séquençage

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

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Interne pour la technologie NGS ; Externe pour le séquençage sanger
	Matériel Oxford Nanopore (MinION)

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

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Bio-informaticien à partir de Novembre 2023
	Outils open source

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Investigation pour le suivi de cas et pour un suivi épidémiologique (cas groupés)

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

Analyse phylogénétique (détermination de clade et lignée)

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

18 séquences ciblant le gène F13L dans le cadre du suivi de patients traités.

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

21 séquences ont été réalisées par NGS.

Séquençage de l'ensemble des échantillons des patients impliqués dans les cas groupés du Val-de-Loire

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

Dans les bases de données fermées : **Serveur local**

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Les laboratoires prescripteurs sont :

Hôpital St Antoine (75), Hôpital Pitié-Salpêtrière (75), CHU Tours (37), CHU Angers (49)

Les échantillons correspondent aux échantillons primaires envoyés pour confirmation de diagnostic. Ce sont des prélèvements cutanés réalisés avec un écouvillon et transférés en milieu de transport universel.

3. Activités de surveillance

- Maintien de la surveillance de la circulation du *monkeypoxvirus*.
- Maintien de la surveillance de la circulation des autres espèces du genre *Orthopoxvirus* dont *cowpoxvirus* et *vacciniavirus*.

3.1 Description du réseau de partenaires



- partenaires qui ont transféré des échantillons diagnostiqués mpox ainsi que des demandes de diagnostic poxvirus.
- partenaires qui ont transféré que des demandes de diagnostic poxvirus.

PARTENAIRES :

- 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) dont ESR (Etablissement de santé de références), Centres Hospitaliers Régionaux (CHR), Centres Hospitaliers Universitaires Intercommunal (CHI), et laboratoires de biologies médicales métropolitains et outre-mer.

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Répartition des cas en fonction du genre et de l'agent infectieux*

		<i>Molluscipoxvirus</i>	<i>Parapoxvirus</i>	<i>Orthopoxvirus</i>			TOTAL
GENRE	Négatif	MCOV	ORFV	VACV	CPXV	MPXV	
N femme	10	0	3	0	1	1	15
N homme	28	3	3	0	1	1	36

*Répartition du genre des patients dont les échantillons ont été reçus pour un diagnostic.

Répartition des cas Mpox*

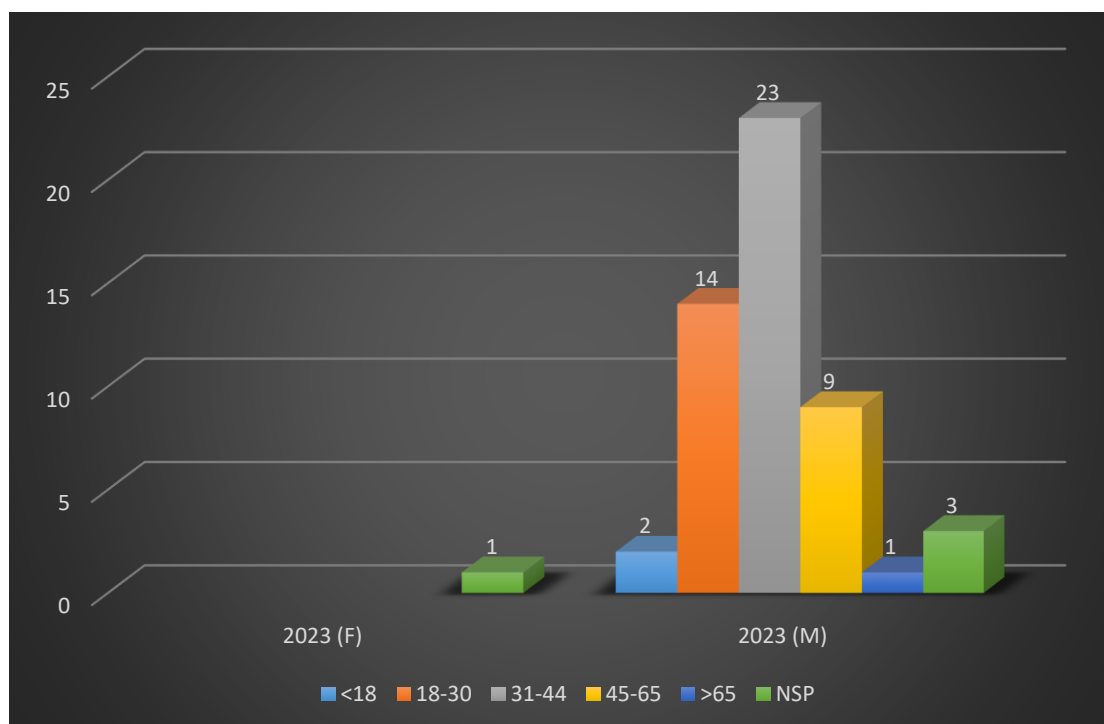
	<i>Orthopoxvirus</i>	Confirmation CNR
GENRE	MPXV	
N femme (CNR)	1	1
N femme (LabExtérieur)	0	0
N homme (CNR)	1	1
N homme (LabExtérieur)	51	50*

(CNR) : Cas reçus par le CNR-LE *Orthopoxvirus* pour un diagnostic primaire.

(LabExtérieur) : Cas reçus par le CNR-LE pour stockage et détermination de clade.

*1 cas n'a pas été confirmé par le CNR. Il s'agissait d'un prélèvement dont le laboratoire Extérieur avait déterminé un Ct tardif.

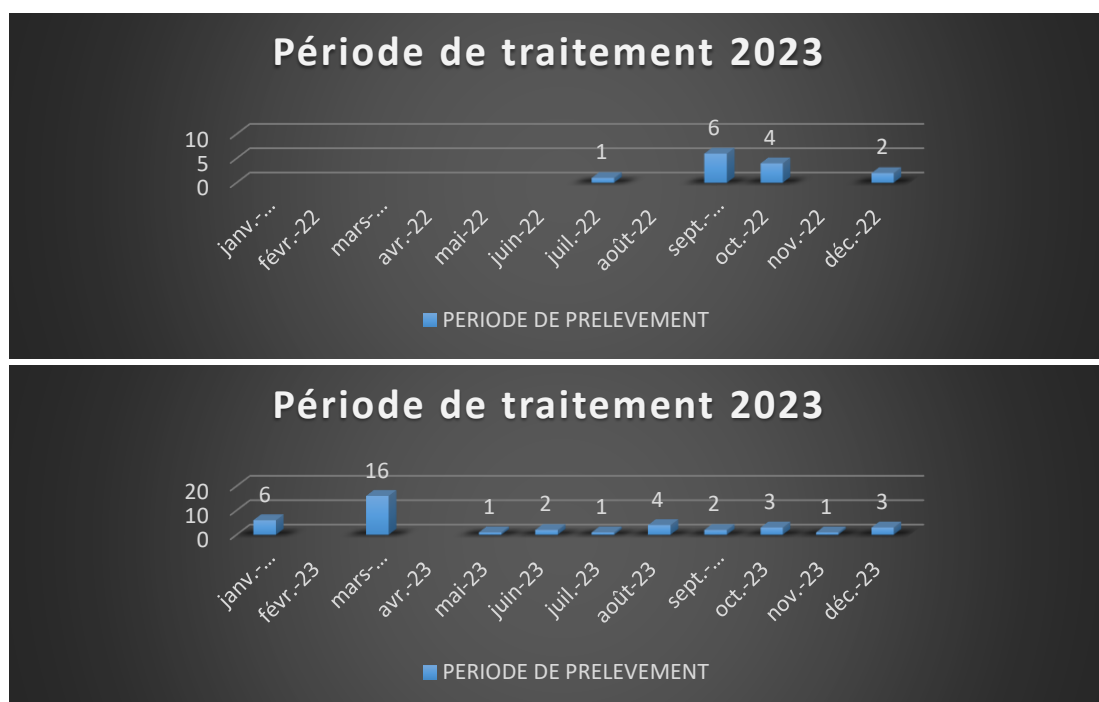
Répartition des cas Mpox en fonction de l'âge (cas CNR et LabExtérieur)



*NSP : Date de naissance non connue.

La tranche d'âge 31-44 ans est la plus représentée parmi les échantillons traités par le CNR-LE *Orthopoxvirus*.

Répartition des dates de prélèvements des cas Mpox reçus par le CNR en 2023



Le pic de prélèvement correspond au cas groupé du Val-de-Loire.

La mise en évidence de 1 à 4 cas par mois depuis mai 2023 met en évidence le maintien de la circulation du *monkeypox virus* dans l'hexagone.

Le CNR-LE Orthopoxvirus a depuis le mois de Juillet 2023 parallèlement à la confirmation de diagnostic déterminé le clade des échantillons.

De Juillet 2023 à Décembre 2023, tous les échantillons testés ont été apparenté au clade II.

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

Le CNR-LE Orthopoxvirus n'effectue pas de surveillance de la résistance de façon systématique.

Cependant, dans le cadre du suivi de patient traité avec le Tecovirimat, le laboratoire a réalisé la surveillance de l'émergence de mutations pendant et après le traitement.

Au cours de l'année 2023, le laboratoire a participé au suivi d'un patient. Les données en cours de publication montrent la présence de mutations qui apparaissent au cours du traitement et après le traitement. Dans ce cas clinique, le temps de traitement a été de 14 jours et le patient était HIV+.

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.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Cas groupé Centre Val-de-Loire

Contexte : Entre le 23 Janvier et le 23 mars 2023, dix-neuf personnes atteintes de Mpox ont été enregistrées. La totalité des personnes malades sont des hommes âgés de 24 à 56 ans.

Objectifs de l'enquête : Caractérisation de la chaîne de contamination.

Partenaires : CHRU de Tour

Contribution du CNR : Séquençage à partir des échantillons primaires ou des virus isolés de ces échantillons et réalisation de séro-neutralisations pour la réponse vaccinale.

Principaux résultats : Les résultats de séquençages ont permis d'apparenter les séquences à la lignée B1, B1.5, B1.7 du Clade IIb. Les résultats de séro-neutralisation vis-à-vis du *monkeypoxvirus* n'ont pas permis la mise en évidence d'anticorps neutralisant à l'exception de deux patients.

Valorisation : Compte rendu d'analyse.

Cas persistance virale post traitement antiviral

Contexte : Patiente VIH+ non contrôlée suivie pour une infection Mpox profuse (>100 lésions) traitée par Tecovirimat (15j) et ayant présentée une cicatrisation lente de certaines lésions cutanées en lien avec une détection virale forte.

Objectifs de l'enquête : Confirmer la présence de mutations de résistance pour les échantillons prélevés en cours et post traitement. Vérification de la séro-conversion de la patiente.

Partenaires : Hôpital Pitié-Salpêtrière

Contribution du CNR : Séquençage à partir des échantillons primaires ou des virus isolés de ces échantillons et réalisation de séro-neutralisations pour la réponse immune.

Principaux résultats : Les résultats de séquençages ont permis de confirmer la présence de mutations de résistance pour les échantillons prélevés en cours de traitement et post traitement. La résistance a été confirmé par un test virologique. La séro-conversion caractérisé par la présence d'anticorps neutralisant a été mise en évidence 1 mois après le premier prélèvement positif de la patiente.

Valorisation : Compte rendu d'analyse.

4. Alertes

Le CNR LE orthopoxvirus a été sollicité dans le cadre de l'étude des cas groupés du Centre Val-de-Loire. Le CNR LE orthopoxvirus maintien informé Santé Publique France des cas d'orthopoxvirus afin de favoriser le croisement d'information entre les déclarations obligatoires et la détection virale.

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

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

INFORMATIONS LBM

Les informations concernant le CNR-Laboratoire Expert orthopoxvirus sont accessibles sur le site :

<https://irba.sante.defense.gouv.fr/cnr/#orthopoxvirus>

Les documents accessibles sont :

Fiche Patient - Consentement au prélèvement

Fiche Conseil Prélèvement

Contact Téléphonique : 0603875859

Contact mail : irba-cnropv.accueil.fct@def.gouv.fr

Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Conseil auprès des ARS dans le cadre de la gestion des cas de cowpoxvirus.

5.2 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

Modèle Animal (Réfèrent IRBA_A.Ferrier)

Objectifs: (i) Développement d'un modèle modéré d'infection par le monkeypox virus dans un modèle de macaque Cynomolgus (ii) Détermination de la biodistribution du virus après exposition intra-rectale de macaques cynomolgus mâles (iii) Evaluation de nouveaux candidats vaccinaux.

Partenaires : CEA IDMIT

Contribution du CNR : Réalisation des tests de biologie moléculaire, de mise en culture, production virale pour les épreuves infectieuses et de sérologies.

Principaux résultats : En cours.

Analyse des mutations induites par APOBEC3 (Réfèrent IRBA_F.Iseni)

Objectifs: (i) Rôle de l'uracile ADN glycosylase virale dans la réparation de mutations introduites par l'enzyme cellulaire APOBEC3.

Partenaires : Institut Pasteur

Principaux résultats :

APOBEC3F is a mutational Driver of the human Monkeypox virus identified in the 202 outbreak. Suspène R. et al. J.Infect.Dis.2023 11 ;228(10) :1421-1429

Analyses sérologiques (Réfèrent IRBA_M.Grandadam, A.Ferrier)

Objectifs: (i) Mise en place de moyens d'analyses sérologiques spécifique d'espèces dans le genre orthopoxvirus.

Partenaires : -

Contribution du CNR : Utilisation des échantillons pour l'isolement viral.

Utilisation des sérums pour la validation des tests ELISA et de séro-neutralisations. Optimisation de la technique de séro-neutralisation : production d'orthopoxvirus fluorescents et développement de la technique de séro-neutralisation par cytométrie en flux.

Partie 1

Le genre orthopoxvirus se caractérise par une réponse immunologique croisée forte entre les espèces de ce genre. Les tests ELISA qui permettent la détection des IgG ou IgM sont toujours interprétés en fonction de la clinique, et ne permettent une discrimination d'espèce. La détection des IgM et IgG est par défaut relié au virus épidémique.

Les optimisations proposées ont pour buts (i) d'améliorer la spécificité de la détection de la réponse entre les espèces du genre Orthopoxvirus et (ii) de pouvoir discriminer une réponse immunitaire consécutive à une infection naturelle d'une réponse vaccinale.

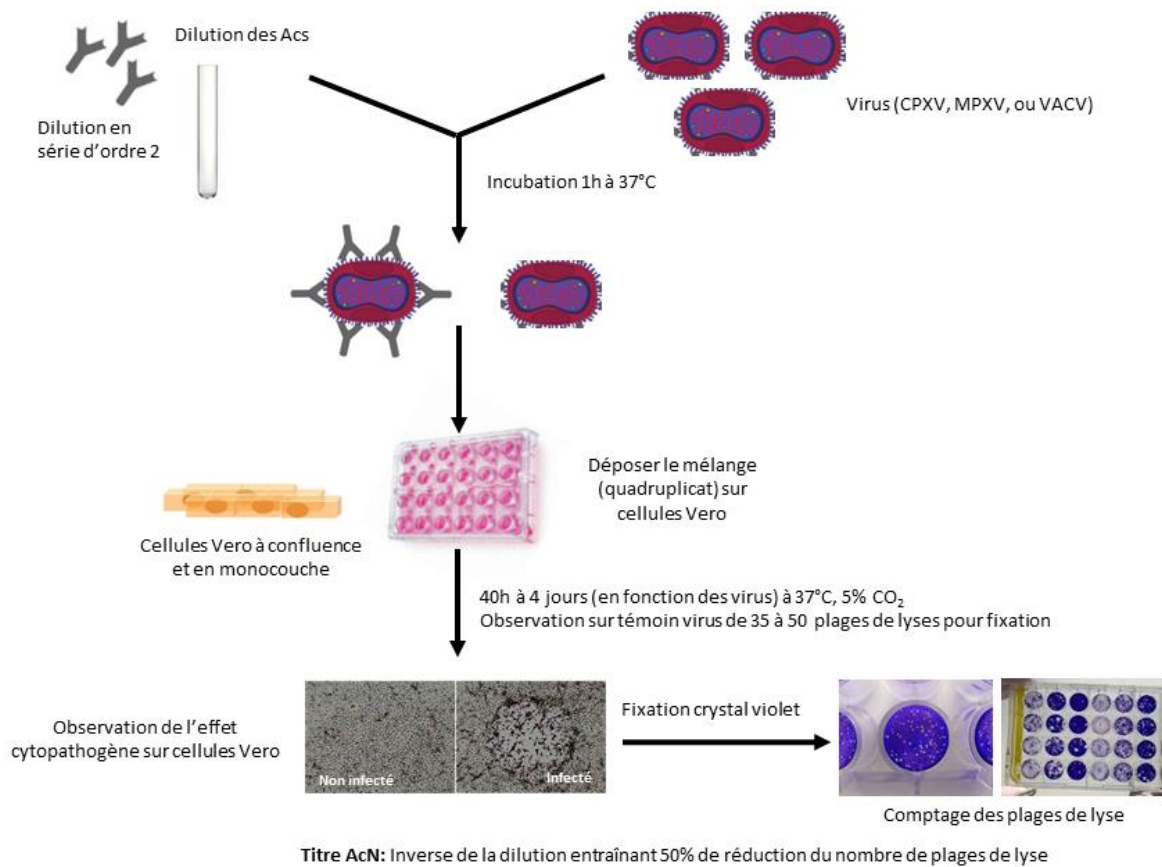
Outre l'amélioration de la spécificité des tests, des aspects purement techniques seront pris en considération comme la capacité à conserver des plaques « pré-sensibilisées », un temps de mise en œuvre réduit afin de faciliter la mise en œuvre des tests ELISA et d'accélérer le rendu des résultats.

Les essais seront réalisés vis-à-vis des virus monkeypox, cowpox et vaccine.

Partie 2 :

La technique de référence (PRNT) pour les orthopoxvirus a été utilisée pour la réalisation des sérologies dans le cadre du CNR.

Rappel du principe de PRNT :



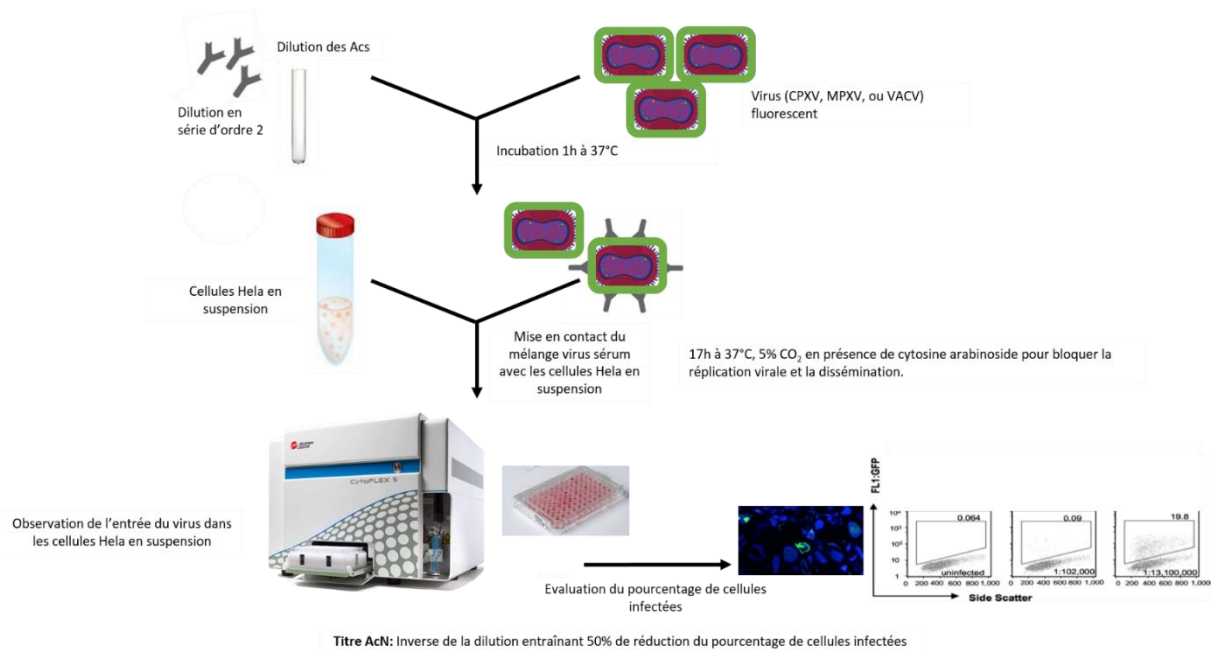
Cette technique permet le dosage d'anticorps neutralisants (AcN) dans des sérums et a été développée dans l'unité pour caractériser les réponses immunitaires protectrices contre les virus Cowpox, Monkeypox, Vaccine Lister et Vaccine MVL.

L'inconvénient de la technique PRNT est qu'elle est lourde avec un impact temps/personnel important. Un personnel peut traiter au maximum 15 échantillons par semaine avec un délai de 5 jours pour l'obtention des résultats.

L'objectif est de développer et de standardiser une méthode de séroneutralisation permettant un criblage rapide et robuste des sérums.

L'approche envisagée repose sur l'utilisation de virus fluorescents et une détection par cytométrie en flux (CMF).

Principe de la technique de révélation d'une réponse neutralisante par CMF :



La spécificité de la méthode de séroneutralisation, en fonction du virus utilisé, sera évaluée et permettra de fixer des seuils de réactivité croisée entre sérum et virus au sein des orthopoxvirus. La protection croisée au sein des orthopoxvirus a été largement documentée à l'occasion des campagnes de vaccination qui ont conduit à l'éradication de la variole. Les techniques actuelles montrent que les niveaux de protection croisés entre Vaccine et Cowpox et Vaccine et Monkeypox sont respectivement de 100% et 85% (23). Des essais entre virus et sérums hétérologues seront réalisés avec les différentes techniques dans le but d'établir les corrélations entre les méthodes et leurs champs d'application.

Perspectives : Le développement de la technique est soumis à l'obtention de virus fluorescents.

Principaux résultats : En cours.

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

ARTICLES

- Suspène, Rodolphe, Kyle A. Raymond, Laetitia Boutin, Sophie Guillier, Frédéric Lemoine, Olivier Ferraris, Jean-Nicolas Tournier, Frédéric Iseni, Etienne Simon-Lorière, et Jean-Pierre Vartanian. 2023. « APOBEC3F Is a Mutational Driver of the Human Monkeypox Virus Identified in the 2022 Outbreak ». The Journal of Infectious Diseases, J.Infect.Dis.2023 11 ;228(10) :1421-1429
- Cavaliere, Charlotte, Anne-Sophie Dupond, Audrey Ferrier-Rembert, Olivier Ferraris, Timothée Klopfenstein, et Souheil Zayet. 2023. « Orf Nodule with Erythema Multiforme during a Monkeypox Outbreak, France, 2022 ». Emerging Infectious Diseases 29 (4): 860-62. <https://doi.org/10.3201/eid2904.230058>.
- Wurtzer, Sebastien, Morgane Levert, Eloise Dhenain, Mickael Boni, Jean Nicolas Tournier, Nicolas Londinsky, Agnès Lefranc, Obepine Sig, Olivier Ferraris, et Laurent Moulin. 2022. « First Detection of Monkeypox Virus Genome in Sewersheds in France ». medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2022.08.18.22278938>.

Zeggagh, Jeremy, Olivier Ferraris, Maud Salmona, Arnaud Tarantola, Jean-Michel Molina, et Constance Delaugerre. 2023. « Second Clinical Episode of HMPX Virus in a Man Having Sex with Men ». The Lancet, mars. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)00509-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)00509-3).

COMMUNICATION ORALE

2eme Journée Raphaéloise de Dermatologie Infectieuse – Mai 2023

O.Ferraris

« Infections à Pox Virus : Le point de vue du CNR »

XXVIème Journée de Microbiologie Clinique du Col.BVH - Juin 2023

O.Ferraris

« Monkeypoxvirus : Une épidémie attendue »

Présentation IBS Grenoble

JN.Tournier

« Mpox virus emergence : back to the future of a forgotten virus family » – Mars 2023

Présentation ANSM :

O.Ferraris

« Infections à Poxvirus » - Juin 2023

Présentations Santé Publique France :

O.Ferraris

« Point phylogénie » - Septembre 2023

« Points d'activité » -10è Journée des CNR – Octobre 2023

COMMUNICATION AFFICHEE

XXIV International Poxvirus, Asfarvirus, and Iridovirus Conference

Ferrier A, Frenois-Veyrat G, Jarjaval F, Cartier N, Alidjinou EK, Salmon-Rousseau A, Gallardo F, Timera H, Boutin L, Grandadam M, Iseni F, Tournier JN, Ferraris O

« Mpox persistence in patient receiving Tecovirimat treatment » - Septembre 2023

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

Participation à la demande de PEPR PREZODE_Projet BatRodToxEm.

WP2 : Evaluation de la circulation des pathogènes ciblés (Coronavirus, Hantavirus, Lyssavirus, Poxvirus) chez les rongeurs et les chiroptères en France métropolitaine et dans les DROM en fonction de divers habitats.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

Le CNR va poursuivre ses programmes pour le développement de tests de diagnostic afin de discriminer les clades du *monkeypoxvirus* (I, II, IIb) par PCR en temps réel et de différencier les varioles majeur et mineur également par PCR en temps réel.

Comme en 2023, le CNR va participer à des Exercices Externes de la Qualité (EEQ), QCMD, UNSGM, BIOTOX.

Le programme de développement du séquençage se poursuit, afin de suivre de plus en plus finement l'évolution des monkeypox virus et adapter les méthodes de diagnostic en conséquence.

Le développement de la technique de séro-neutralisation par cytométrie en flux des virus vaccine, cowpox, monkeypox, afin de déterminer le titre des anticorps neutralisants en homologue et hétérologue afin de proposer un profil de séro-conversion.

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

Rappelez ici les informations suivantes (pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature) en les mettant si nécessaire à jour :

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 par l'Agence nationale de santé publique, l'IRBA s'engage à poursuivre les missions d'expertises et de conseils en accord avec le mandat.

Depuis 2012, son engagement dans une démarche qualité afin d'intégrer les exigences de la norme ISO EN 15189 est à corroborer avec le souhait du CNR LE orthopoxvirus de proposer une expertise de qualité avec une capacité accrue de transfert de techniques de détections validées.

L'épidémie de mpox en 2022 a confirmé la nécessité d'étendre la capacité de diagnostic, d'identification et de caractérisation du CNR LE orthopoxvirus à l'ensemble du genre orthopoxvirus ainsi qu'aux genres connus pour infecter l'homme comme les parapoxvirus, molluscipoxvirus et yatapoxvirus. Parallèlement à cette capacité, le développement des techniques de séquençage est indispensable pour répondre aux questions épidémiologiques consécutives à une émergence. Enfin, le CNR LE orthopoxvirus continuera de s'appuyer sur la recherche finalisée et amont de l'IRBA pour la mise en place de tests sérologiques ainsi que pour la validation de contres mesures médicales.

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 pour répondre aux deux missions prioritaire, expertise et conseil tout en maintenant une capacité de surveillance et d'alerte opérationnelle en particulier dans le cadre de suspicion de circulation de virus de la variole.

Le CNR LE orthopoxvirus s'appuie sur deux biologistes pour la validation des résultats, leurs transfert ainsi que pour l'accomplissement de la mission de conseil.

Le diagnostic est réalisé par l'utilisation de techniques d'amplification de l'acide nucléique virale. Afin de maintenir la compétence du personnel de l'unité de virologie, une mise à disposition du personnel pour l'activité LBM est gérée par des rotations mensuelles ou hebdomadaires en fonction du nombre d'échantillons à traiter.

Pour les activités d'expertises comme la sérologie ou le séquençage un binôme est affecté à chaque activité en marge de son activité de recherche (sans rotation possible).

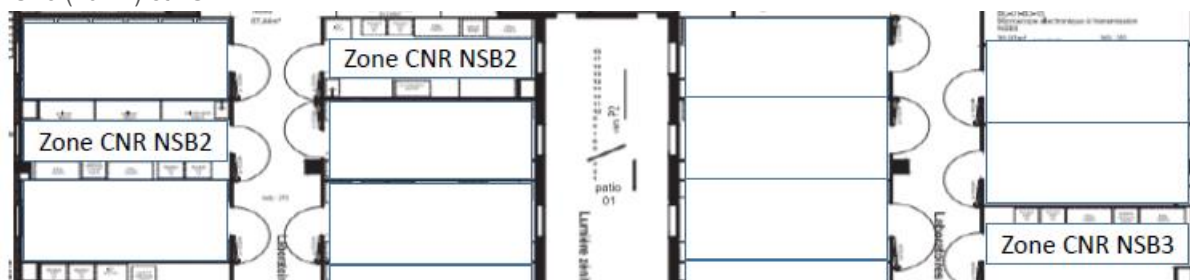
En 2023, le laboratoire s'est appuyé sur la disponibilité de 2 chercheurs/biologistes, 1 ingénieure, 4 techniciennes.

NOM	Fonction	Qualification	Statut	Organisme payeur
Olivier Ferraris	Responsable	PhD	Permanent	Ministère de la Défense
Audrey Ferrier-Rembert	Adjoint-Chef de projet	PhD	Permanent	Ministère de la Défense
Gaelle Frénois-Veyrat	Ingénieure	Ing	Permanent	Ministère de la Défense
Fanny Jarjaval	Technicienne	Tech	Permanent	Ministère de la Défense
Estelle Mosca	Technicienne	Tech	Permanent	Ministère de la Défense
Laetitia Boutin	Technicienne	Tech	Permanent	Ministère de la Défense
Hawa Timera	Technicienne	Tech	Permanent	Ministère de la Défense

1.3 Locaux et équipements

L'activité du laboratoire est basée sur l'utilisation priorisée des locaux de l'unité de virologie. Le CNR-LE orthopoxvirus dispose de locaux NSB2 pour la réception, l'enregistrement et le traitement des échantillons. Il dispose également de locaux NSB3 priorisés pour le traitement des suspicions d'orthopoxviroses simiennes et variole. Le CNR-LE orthopoxvirus dispose d'un accès à un laboratoire NSB4. L'accès au Laboratoire INSERM-P4-Jean Mérieux sera maintenu en parallèle de l'accès au laboratoire NSB4 de l'IRBA même après ouverture de ce dernier.

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.



Principaux équipements

Thermocyclers : BioRad CFX et OPUS96

Séquenceurs (MinION, Illumina)

1.4 Collections de matériel biologique

Collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence disponibles

Conditions de stockage

Les collections sont stockées à -80°C dans des congélateurs à accès réglementé (badge) et dans une pièce sécurisée à accès réglementé (badge). Le congélateur fait l'objet d'un suivi métrologique. La gestion du stock est réalisée à l'aide du logiciel « Labcollector » sur réseau interne.

Mise à disposition des souches dans le cadre de l'activité du CNR

Les différentes souches d'orthopoxvirus sont à disposition des différents laboratoires sous MTA pour traçabilité des souches (application de l'arrêté du 22 septembre 2001 ; SANP012410A) et dans le cadre d'une autorisation préalable de l'ANSM.

Souches de Référence	
Genre	Classe
Vaccine	2
Cowpoxvirus	2
Camelpoxvirus	2
Diffusion limitée à la détention d'un LSB3	
Monkeypoxvirus	3

Isolats	
Genre	Classe
<i>Cowpoxvirus</i> isolés par le CNR	2
<i>Orfivirus</i> isolés par le CNR	2
<i>Pseudocowpoxvirus</i> isolés par le CNR	2
<i>Monkeypoxvirus</i> isolés par le CNR	3

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Le laboratoire s'est engagé à assurer sa mission dans le respect des normes qualité conformément aux exigences de la norme ISO EN 15189 dès 2015, date de la demande initiale. A la suite d'une évaluation initiale (2016) puis complémentaire (2017) le CNR a été accrédité en Janvier 2018.

Le numéro d'accréditation du CNR est le 8-4084.

Les PCR sous accréditations sont les PCR génériques Orthopoxvirus et Parapoxvirus.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

2.1 Liste des techniques de référence

Liste des techniques disponibles pour le diagnostic et l'identification des agents pathogènes, et l'évaluation de la sensibilité aux anti-infectieux.

Genre/Espèce	Méthode de détection	Accréditées
Orthopoxvirus	PCR Temps Réel_Isolement_Microscopie	PCR TempsRéel-2018
Variola virus		PCR TempsRéel-2018
Monkeypox virus		
Cowpox virus	PCR Temps Réel_Isolement_Microscopie	
Vaccinia virus		
Ectromelia virus		
Camelpox virus		
Molluscipoxvirus		
Molluscum contagiosum	PCR Temps Réel	
Parapoxvirus	PCR Temps Réel_Isolement_Microscopie	PCR TempsRéel-2018
Orf virus		
Pseudocowpox virus	PCR Temps Réel_Isolement_Microscopie	
Bovine Papular Stomatitis virus		
Yatapoxvirus	PCR Temps Réel_Isolement_Microscopie	

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

Le CNR LE orthopoxvirus a recommandé et partagé les techniques :

- PCR temps réel pour la détection du genre orthopoxvirus.
- PCR temps réel pour la détection de l'espèce monkeypoxvirus (clade 1 et 2).

Les Kits RUO et CE-IVD validés par le CNR LE orthopoxvirus sont présentés sur le site du CNR ainsi que sur le site de la SFM.