2010

Rapport d'activités

Institut Pasteur
de Nouvelle-Calédonie
Réseau International des Instituts Pasteur

SOMMAIRE GENERAL

SOMMAIRE GENERAL 1

INTRODUCTION 3
EDITORIAL 4
L'ANNEE 2010 EN QUELQUES CHIFFRES 6
ORGANIGRAMME FONCTIONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR DE NOUVELLE-CALEDONIE 7
LISTE ALPHABETIQUE DU PERSONNEL AU 31/12/2010 8
LES INVESTISSEMENTS 10
LES FINANCEMENTS 11

SERVICES ADMINISTRATIFS & TECHNIQUES 13
SERVICES TECHNIQUES GENERAUX 14
HYGIENE, SECURITE, CONDITIONS DE TRAVAIL 14
LA DEMARCHE QUALITE 16

ACTIVITES DE DIAGNOSTIC 21
GENERALITES 22
ACTIVITES DU CENTRE DE BIOLOGIE MEDICALE 23
HEMATOLOGIE 24
LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE 25
LABORATOIRE DE PARASITO-MYCOLOGIE 29
LABORATOIRES SERO-IMMUNOLOGIE ET DIAGNOSTIC SPECIALISE 30
LABORATOIRE D'HYGIENE DES ALIMENTS ET DE L'ENVIRONNEMENT 31

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE 33
POINT D'ETAPE SUR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES EN NOUVELLE-CALEDONIE 2005-2010 34
SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES GONOCOQUES EN NOUVELLE-CALEDONIE 39
SURVEILLANCE DU PNEUMOCOQUE EN NOUVELLE-CALEDONIE 43
SURVEILLANCE DES MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 46
TUBERCULOSE & MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE 46
ACTIVITES REGIONALES : ETUDE DES SOUCHES DE M. TUBERCULOSIS ISOLEES A WALLIS ET FUTUNA 49
SURVEILLANCE DE LA LEPTOSPIROSE EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 50
SURVEILLANCE DE LA GRIPPE ET AUTRES VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE EN NOUVELLE-CALEDONIE 58
SURVEILLANCE DU VIH EN NOUVELLE-CALEDONIE 63
SURVEILLANCE DE LA DENGUE EN NOUVELLE-CALEDONIE 67
SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE DES MOUSTIQUES VECTEURS DE LA DENGUE 74
REGISTRE DU CANCER DE NOUVELLE-CALEDONIE 85

ACTIVITES DE RECHERCHE 87
LE CONSEIL SCIENTIFIQUE 88
LABORATOIRE DE RECHERCHE EN BACTERIOLOGIE 89
LEPTOSPIRES ET LEPTOSPIROSES 89
ETUDES SUR LES VIBRIO PATHOGENES DES CREVETTES D'ELEVAGE : COLLABORATION AVEC L'IFREMER 95
LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE 97
LA DENGUE 97
LES INFECTIONS RESPIRATOIRES ET PNEUMOCOQUES 100
BIO-PROSPECTION ET BIODIVERSITE DE MICRO-ORGANISMES DES MILIEUX EXTREMES DES LAGONS DE LA NOUVELLE-CALEDONIE 107
UNITE EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES INFECTIEUSES 111

AUTRES ACTIVITES 113
FORMATION CONTINUE DU PERSONNEL IPNC 114
FORMATION DISPENSEE PAR L'IPNC 116
PUBLICATIONS, DIFFUSION DES CONNAISSANCES, COMMUNICATIONS 117

INTRODUCTION

INTRODUCTION 3
EDITORIAL 4
L'ANNEE 2010 EN QUELQUES CHIFFRES 6
ORGANIGRAMME FONCTIONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR DE NOUVELLE-CALEDONIE ... 7
LISTE ALPHABETIQUE DU PERSONNEL AU 31/12/2010 8
LES INVESTISSEMENTS 10
LES FINANCEMENTS 11

EDITORIAL

Dès l'année 2008, notre éditorial annonçait que l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC), bientôt centenaire, se lançait dans des réflexions stratégiques prospectives à la recherche d'une nouvelle identité pasteurienne, plus en rapport avec l'évolution politique et socio-économique rapide du pays.

Ces réflexions qui engagent l'avenir ont abouti en 2009 à des propositions qui sont le fruit d'échanges entre les institutions concernées, les partenaires et le personnel de l'IPNC. Il s'agit d'un schéma d'évolution de l'établissement sur une période de 5 ans, c'est-à-dire jusqu'à l'implantation d'un nouvel IPNC dans le médipôle à Koutio, en périphérie de Nouméa. Tout en conservant ses missions de base, il est prévu un rééquilibrage de ses activités, avec une plus grande part réservée à la recherche et à la santé publique. Les moyens pour y parvenir sont envisagés. L'objectif final est de repositionner les missions de l'IPNC en Nouvelle-Calédonie, avec une vision régionale. Sur cette base, une nouvelle convention de coopération partenariale entre l'Institut Pasteur, le Gouvernement de Nouvelle-Calédonie et l'Etat devait voir le jour au cours de l'année 2010 ; mais des aléas divers en ont retardé l'aboutissement.

L'équilibre budgétaire d'exploitation retrouvé en 2008, avait été confirmé en 2009 grâce à une augmentation notable des activités d'analyses, ainsi qu'à une meilleure gestion des ressources ces dernières années. Ces résultats positifs nous ont permis d'entreprendre quelques chantiers importants qui doivent se poursuivre sur plusieurs années.

En 2010, année ordinaire et sans évènement majeur, le budget est juste en équilibre, mais il a permis de poursuivre les efforts initiés l'année précédente : la modernisation des plateformes techniques, l'optimisation de la fonctionnalité des locaux avec l'amélioration des conditions de travail, le démarrage de l'établissement de la carte des risques professionnels, et le renforcement des actions de la démarche qualité qui a maintenant l'adhésion dynamique de la majorité du personnel. Et enfin, il faut signaler le début d'une structuration de la politique de formation professionnelle continue.

Sur le plan des activités techniques et scientifiques, l'année a été marquée par le transfert du registre du cancer de Nouvelle-Calédonie à la DASS-NC. L'unité d'épidémiologie des maladies infectieuses a été créée avec l'arrivée d'un médecin épidémiologiste, dans le but de renforcer les activités de recherches et de santé publique.

Le laboratoire d'analyses médicales poursuit ses activités à un rythme soutenu. La collaboration avec les services hospitaliers permet, en particulier, le suivi attentif des résistances bactériennes aux antibiotiques. D'une façon générale, les activités de référence et de surveillance microbiologique pour la santé publique restent une des missions essentielles de l'IPNC. Celles-ci sont réalisées en collaboration avec la DASS-NC et d'autres partenaires publics ou privés.

Depuis 3 ans, notre objectif de développer la recherche sur les maladies infectieuses commence à porter ses fruits. Le programme sur la leptospirose s'est structuré avec plusieurs actions de recherche qui ont déjà abouti à des publications de niveau international. Le programme dengue se renforce peu à peu. Il faut noter avec satisfaction que 2 jeunes scientifiques calédoniennes ont été affectées à ces programmes, après avoir bénéficié de formations spécialisées à l'Institut Pasteur à Paris.

C'est au cours de cette année que l'IPNC a décidé d'intégrer dans ses thématiques de recherche, le rhumatisme articulaire aigu. Conséquence d'une maladie infectieuse, il constitue un problème de santé publique en Nouvelle-Calédonie comme dans l'ensemble du Pacifique.

En partenariat avec l'Ifremer et encouragés par la stratégie de recherche-innovation dans l'outre-mer français, nous avons démarré un projet de recherche sur les bactéries marines de milieux atypiques calédoniens, susceptibles de produire des biomolécules originales ayant une application dans le domaine médical ou paramédical.

En 2010, a été créé un conseil scientifique propre à l'IPNC. Constitué d'experts internationaux, son rôle est d'évaluer les activités de recherche et de santé publique, et de conseiller le directeur sur les orientations stratégiques et les partenariats scientifiques à développer.

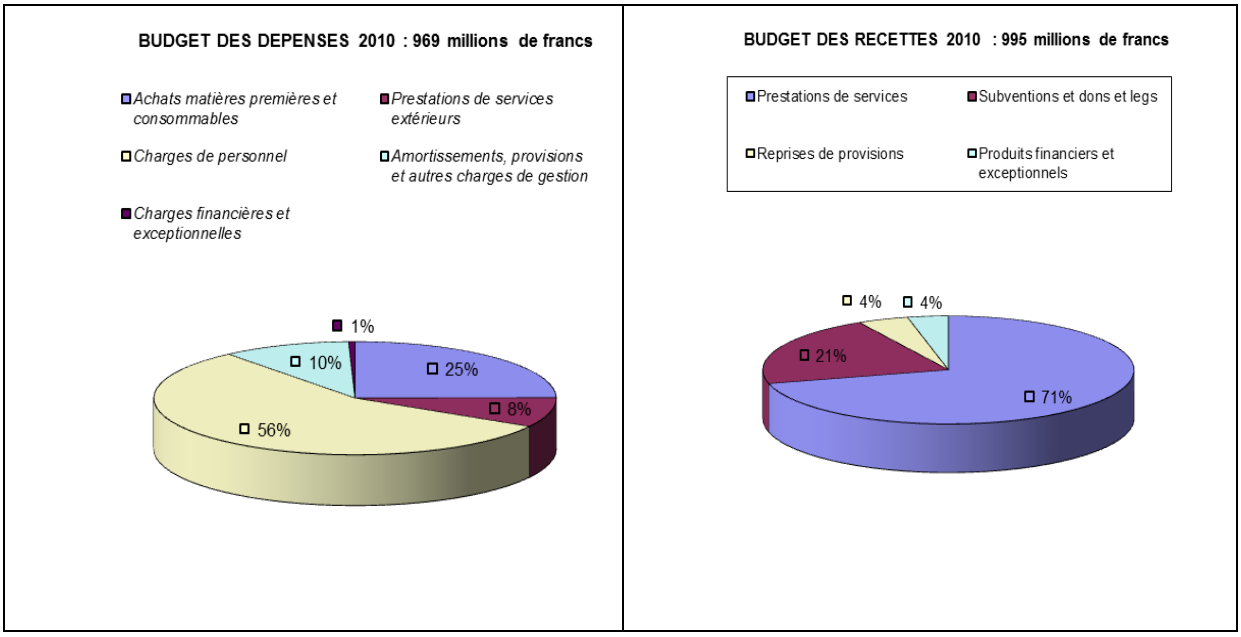
Nous espérons, en 2011, l'aboutissement d'une nouvelle convention qui replacera les missions de l'IPNC dans l'environnement de la santé et de la recherche en Nouvelle-Calédonie, tout en définissant ses règles de fonctionnement et de financement.

Suzanne CHANTEAU
Directrice
Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

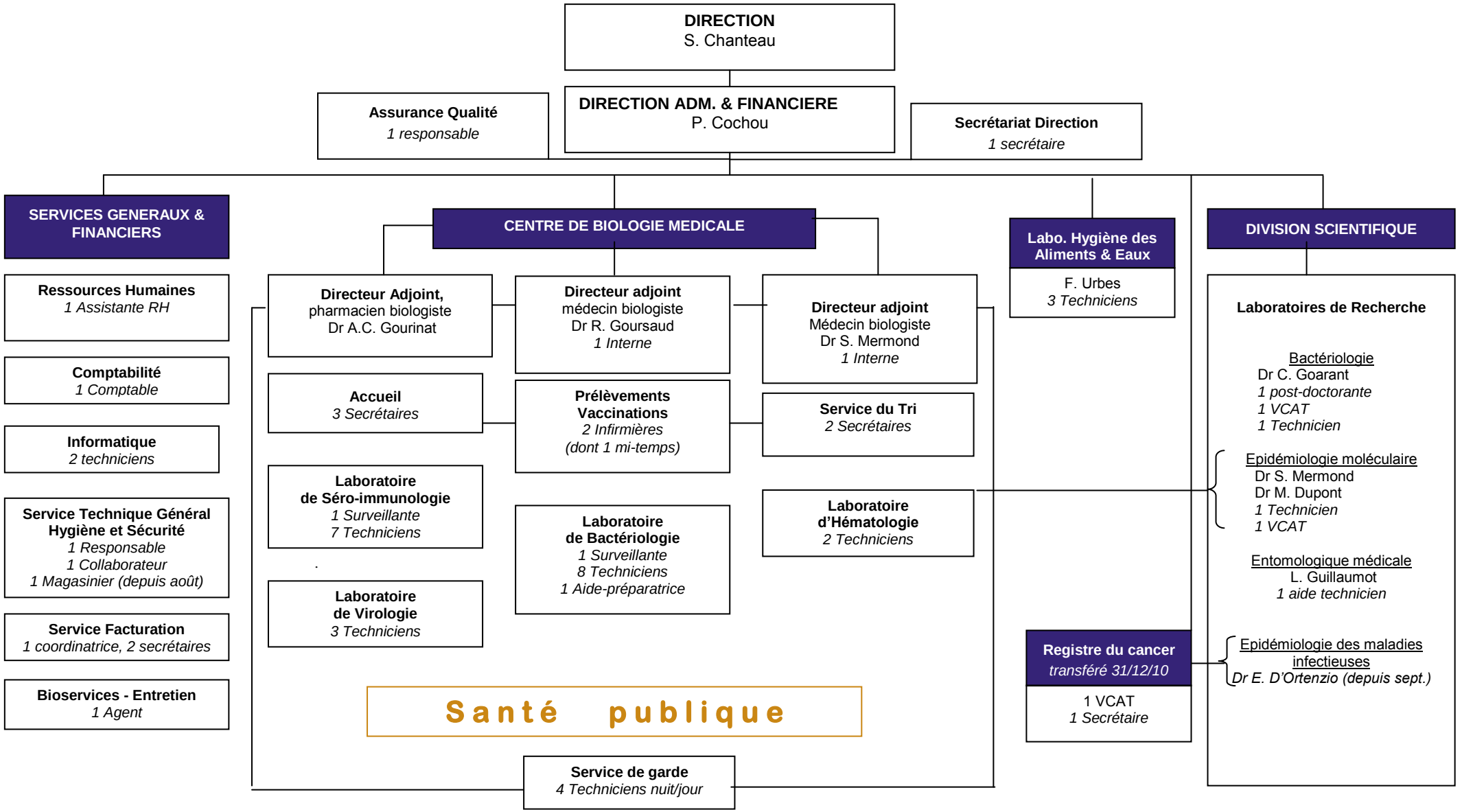
L'ANNEE 2010 EN QUELQUES CHIFFRES

	2010	2009	2008	2007
Personnel				
Effectif total au 31 décembre	**69 + 6***	**71 + 6 ***	**68 + 7***	**73 + 5***
Scientifiques, biologistes/chercheurs temps partiel	6 + 6*	6 + 6 *	8+ 7*	8 + 5*
Techniciens labo + cadres de santé	40	43	38	41
Administratifs	21	19	19	21
Service général	**2**	3	3	3
Budget d'exploitation en M. FCFP				
Personnel (IPP + IPNC + Assistance technique + fonctionnaires)	540	542	537	586
Fonctionnement	424	431	409	360
Investissement	49	12	32	50
Total	**1.013**	**985**	**978**	**996**
Activités de Diagnostic				
Nombre d'actes (x1000)	168	188	169	136
Nombre de B/BP (x1000)	10 802	11 873	10 512	11 608
Valeur moyenne des actes (en B)	64	63	62	85

***** : VCAT, internes, étudiants, détachés.



ORGANIGRAMME FONCTIONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR DE NOUVELLE-CALEDONIE



LISTE ALPHABETIQUE DU PERSONNEL AU 31/12/2010

1. PERSONNEL EN CDI AU 31/12/2010

Statut : **1** = contractuel IPNC **2** = fonctionnaire territorial (charges salariales remboursées par IPNC)

Nom et Fonction	Statut
ANDRUET Sophie (Technicienne de laboratoire)	1
BARAQUET Philippe (Collaborateur au Service Technique Général)	1
BROSSE Patricia (Technicienne de laboratoire)	1
BRUYERE-OSTELLS Lilian (Technicien de laboratoire)	1
CHANTEAU Suzanne (Directrice)	IP Paris
COCHOU Pierre (Directeur Administratif et Financier)	IP Paris
COLLIN Viviane (Responsable du STG)	1
COUSTON Sylvie (Technicienne de laboratoire)	1
DAMBREVILLE Rachel (Secrétaire médico-sociale)	1
D'ORTENZIO Eric (Médecin épidémiologiste) – 17/09/10	IP Paris
DUPONT-ROUZEYROL Myrielle (chercheur microbiologiste)	1
GALBY Karine (Technicienne de laboratoire)	1
FRAGASSI Florence (Technicienne de laboratoire)	1
GIRAULT Dominique (Technicienne de laboratoire)	2
GOARANT Cyrille (Resp. du labo de recherche en bactériologie)	IP Paris
GOURINAT Ann-Claire (Responsable des laboratoires séro-immunologie et virologie)	1
GOURSAUD Régis (Responsable du laboratoire de bactériologie)	IP Paris
GUILLAUMOT Laurent (Responsable du laboratoire entomologie médicale)	1
HEMELSDAEL Emmanuel (Technicien de laboratoire)	2
HMAE Hélène (Femme de service M.A.S.)	2
ICARDI Ollivier (Technicien de laboratoire)	2
JEANNETTE Viviane (Secrétaire médicale)	1
KELETAONA Ilaïsa (Technicienne de laboratoire)	1
KILAMA Sosiasi (Aide de laboratoire)	1
LACABANNE Karen (Secrétaire médicale)	1
LAFFONT Stéphanie (Technicienne de laboratoire)	1
LAMY Corinne (Technicienne de laboratoire) – CDI à cpter 02/11/10	1
LAZZAROTTO Lionel (Technicien de laboratoire)	1
LEAO KITU Jean (Agent de service)	1
LE BIHAN (Technicienne de laboratoire)	1
LECUYER Irène (Surveillante de laboratoire)	2
LETHEZER Anne-Laure (Secrétaire médicale)	1
LETHEZER Camille (Surveillante de laboratoire)	2
LETOCART Catherine (Secrétaire médicale)	1
LONGEPIED Françoise (Technicienne de laboratoire)	1
LUSSIEZ Véronique (Comptable) – CDI au 01/03/10	1
MANAUTE Carole (Technicienne de laboratoire)	2
MERMOND Sylvain (Responsable du laboratoire hématologie)	IP Paris
MOLEANA Denise (Technicienne de laboratoire)	2
MOUGATOGA Rowena (Secrétaire médicale)	1
MOUX Claudina (Technicienne de laboratoire)	1
MROZ Sylvie (Technicienne de laboratoire)	2
O'CONNOR Olivia (Technicienne de recherche diagnostic spécialisé)	1
PAPROCKI Nathalie (Secrétaire médicale)	1
POITHILY Chantal (Technicienne de laboratoire)	1
PUYO Pascale (Infirmière Diplômée d'Etat)	1
ROUCHON Frédéric (Technicien Informaticien)	1
SABOT Sidavy (Secrétaire de Direction)	1
SALGUEIRO Patricia (Technicienne de laboratoire)	1
SLAMET Irwana (Magasinier) – CDI 01/08/10	1

TAUHOLA Camélia (Secrétaire médicale)	1
TAXIER Carmen (Aide Préparatrice de laboratoire)	1
THOMAS Imelda (Technicienne de laboratoire)	1
TOURANCHEAU Stéphane (Technicien de laboratoire)	2
TREPTOW Sonia (Secrétaire médicale)	1
TROC Sylvie (Technicienne de laboratoire)	2
TUAIVA Jeannette (Responsable assurance qualité)	1
URBES Florence (Ingénieur)	1
VAAGAHU Marguerite (Laborantine)	2
VANIN Delphine (Technicienne de laboratoire)	1
VEDRENNE Lilian (Technicien Informaticien)	1
WAMYTAN Nadine (Secrétaire médicale)	1
WEMAMA Marie-Joseph (Technicienne de laboratoire)	1

2. PERSONNEL EN CONTRAT TEMPORAIRE OU EN SUSPENSION DE CONTRAT

Nom et Fonction	Budget
BECAM Jérôme (VCAT L.R.B) – 01/04/10 au 31/03/11	1
BUFARD Patricia (Infirmière Diplômée d'Etat à mi-temps) - CDD 26/10/10 au 25/10/11	
CHALKIADAKIS Elefterios (doctorant Ifremer, codirigé par Ifremer/IPNC) - 3 ans à cpter du 15/09	
CHALUS Elodie (Interne Bactério) – 01/11/10 au 31/10/2011	1
DUFOURCQ Rémi (VCAT L.E.M.) - 01/03/10 au 30/06/11	1
DUMAS Nathalie (Infirmière Diplômée d'Etat à mi-temps) – Congé sabbatique à cpter 01/12/10	1
MAGNAT Elodie (VCAT Epidémio. jusqu'au 31/10/2010 et CDD jusqu'au 31/12/10)	1
MATSUI Mariko (chercheur) – Mise à disposition pour 2 ans à cpter du 01/02/10	1
PEREZ Julie (VCAT LRB) jusqu'au 31/03/10	1
PERNOT Elise (Technicienne de laboratoire) – CDD 02/06/09 au 31/05/10	1
QUACH Charlotte (Technicienne de laboratoire) – CDD 02/11/10 au 30/04/11	1
RIVOIRE Nathalie (Interne Bactério) - 02/11/09 au 31/10/10	
VIC Marlène (VCAT Ifremer détachée au LRB) jusqu'au 31/08/10	
ZURAWSKI Virginie (Interne L.E.M.) – 01/05/10 au 30/04/11	1

3. PERSONNEL AYANT CESSE SON ACTIVITE EN COURS D'ANNEE

Nom et Fonction	Budget
BAUMANN Francine (Resp. du service Biostatistiques et Epidémiologie) – depuis 17/03/10	1
GOPOEA Pétronille (Femme de service M.A.S.) – depuis 31/07/10	2
LARTIGUE Maximilien (Technicien de laboratoire) – depuis 05/11/10	1
MASSENET Louise (Technicienne de laboratoire) – depuis 20/04/10	1
MAURON Carine (Technicienne de laboratoire) – depuis 30/04/10	1
MOKHTARI Sonia (Technicienne de laboratoire) – depuis 31/10/10	1

LES INVESTISSEMENTS

1. EQUIPEMENT SCIENTIFIQUE

2 Pipettes électroniques
3 Automates immunologie
1 Broyeur Magna Lyser
1 Spectrophotomètre
1 Colorateur de lames
1 Microscope
1 Thermocycleur
2 Bain-marie
1 Pompe péristaltique
1 Centrifugeuse

2. MATERIEL DE BUREAU & INFORMATIQUE

1 Coffre-fort anti-feu
1 Autocom
1 Rétroprojecteur
1 Lame serveur X3650 M2
1 Routeur
6 Ordinateurs

3. MATERIEL NON SCIENTIFIQUE

1 Véhicule pick-up FORD RANGER
1 Local-chalet DASRI
1 Portail automatique
1 Grille barreaudage
1 Ensemble d'étagères d'archivage (site Numbo)

4. AMENAGEMENT DES LOCAUX

13 Climatiseurs
5 Meubles rotatifs de classement
2 Fauteuils de prélèvement
1 Ensemble bureau & caisson
1 Ensemble étagères métalliques
1 Armoire basse
1 Cloison vitrée

5. LOGICIEL

1 logiciel de sauvegarde et son robot

LES FINANCEMENTS

1. SUBVENTIONS INSTITUTIONNELLES

1.1. GOUVERNEMENT DE NOUVELLE-CALEDONIE

- Subvention pour la surveillance des maladies infectieuses, l'entomologie médicale et le registre du cancer.
- Conventions de remboursement de salaire sur le poste du directeur et 2 postes de biologistes.

1.2. INSTITUT PASTEUR PARIS, MINISTERE DE RECHERCHE ET ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

- Subvention globale pour la recherche.

2. SUBVENTIONS DE PROJETS ET EXPERTISE

2.1. . INSTITUT PASTEUR PARIS

- ACIP «Mise au point et validation d'un test de diagnostic rapide de la leptospirose » - C. Goarant.
- ACIP « Mise en place d'un groupe de recherche sur la leptospirose dans le RIIP » - C. Goarant.
- ACIP « Impact of temperature on detoxifying enzyme expression and activity and its consequences on *Aedes aegypti* insecticide resistance ».
- ACIP « Les pseudo-particules virales de dengue : application en diagnostic immunologique et séroneutralisation ».
- Prise en charge de frais de participation à des réunions scientifiques, ateliers.
- Bourses de formation (cours de spécialisation à l'Institut Pasteur).
- Centres nationaux de référence : expertise, réactifs, procédures.

2.2. MINISTERE D'OUTRE-MER, FONDS DU PACIFIQUE

- « Virus de la dengue dans les états insulaires du Pacifique Sud : épidémiologie moléculaire, évolution génétique et diversité génétique intra-hôte chez l'homme et le vecteur ». Fonds du Pacifique. M. Dupont-Rouzeyrol. Coordination Van Mai Cao-Lormeau (Institut L. Malardé, Tahiti).
- « Mise au point et validation d'un test de diagnostic rapide de la leptospirose » - C. Goarant.
- « Prévention et prévisions des épidémies de dengue ». L Guillaumot, AC Gourinat. Coordinateur Morgan Mangeas (IRD Nouméa).
- « Bioprospection des bactéries marines à visée biotechnologique ». M. Dupont-Rouzeyrol. Collaboration avec l'Ifremer Brest et Nouméa. Coordinateur Jean Guezennec (Ifremer Brest).

2.3. AGENCE NATIONALE POUR LA RECHERCHE (ANR)

- « Virus de la dengue dans les états insulaires du Pacifique Sud : épidémiologie moléculaire, évolution génétique et diversité génétique intra-hôte chez l'homme et le vecteur ». M. Dupont-Rouzeyrol. Coordination Van Mai Cao-Lormeau (Institut L. Malardé,Tahiti).

2.4. FONDATION B & M GATES

- « Etiologie des infections respiratoires basses chez l'enfant de moins de cinq ans ». Projet *PERCH*. S. Mermond. Coordination O. Levine, J. Hopkins School of Public Health, Baltimore, USA.

2.5. SECRETARIAT DE LA COMMUNAUTE DU PACIFIQUE (SPC)

- Préparation à la pandémie de grippe et grippe aviaire.

SERVICES ADMINISTRATIFS & TECHNIQUES

SERVICES TECHNIQUES GENERAUX, HYGIENE, SECURITE, CONDITIONS DE TRAVAIL 14

LA DEMARCHE QUALITE 16

SERVICES TECHNIQUES GENERAUX
HYGIENE, SECURITE, CONDITIONS DE TRAVAIL

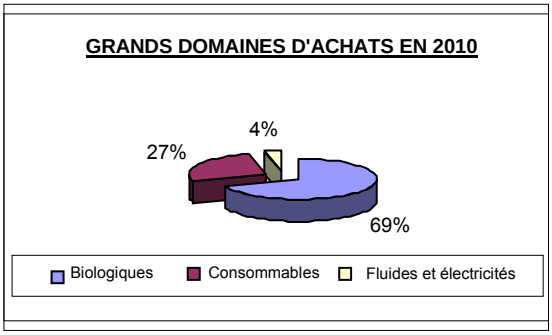
V. Collin, P. Cochou

1. 2010 : ANNEE DE REORGANISATION DU SERVICE

Le service s'est réorganisé en septembre 2010. Il comprend à présent une responsable, un adjoint, un collaborateur logistique et un vaguemestre/coursier. En plus des activités habituelles d'achats et de gestion des stocks, le service a renforcé le suivi du matériel, la maintenance des équipements et des infrastructures, la prévention, l'hygiène et la sécurité, ainsi que le suivi des investissements et des grands projets.

1.1. LES ACHATS ET INVESTISSEMENTS

L'achat des produits biologiques et consommables représente actuellement les 2/3 de l'activité du service. Les achats (155 millions XFP en 2010 soit 1 292 000 Euro) se répartissent de la manière suivante :



Les investissements en équipements scientifiques et non scientifiques, les aménagements de locaux sont décrits en page 10 et représentent un budget d'environ 50,3 M XPF (419 160 €).

1.2. LE DEVELOPPEMENT DURABLE

Il fait son entrée sous forme d'un audit énergétique, qui a permis la réalisation d'un état des lieux des consommations énergétiques, afin de connaître les principaux postes consommateurs d'énergie et de faire des préconisations pour réaliser des économies ainsi qu'une sensibilisation à l'ensemble du personnel. Les aménagements préconisés permettront à terme de réduire de 5% la consommation annuelle d'électricité.

1.3. LES ACTIONS DE SECURITE

Elles sont multiples et répondent à 3 types de besoins (réglementaires, proposés par le CHSCT, ou exprimés par le personnel) : amélioration du port des équipements de protection individuelle (EPI), réaménagement de postes, création du dossier des fiches de sécurité (FDS), réalisation et mise en place d'une signalétique des équipements hors service, répondant à la fois aux exigences de la mise en place du « document unique », au respect de la règlementation et de la démarche qualité.

1.4. L'EVALUATION DES RISQUES PROFESSIONNELS (EVRP)

Elle a été anticipée afin de répondre à terme à la réglementation applicable à toutes les entreprises et établissements ≥ à 50 salariés, à compter du 1er janvier 2012 (Article Lp 261-3 du Code du Travail).
La mise en œuvre de l'EvRP consiste en outre à créer un outil EvRP, à former la garante de méthodologie (V. Collin) et élaborer un plan d'actions. Elle est réalisée en partenariat avec la société CAPSE NC.

La démarche participative, en groupe de travail, est adoptée pour l'ensemble des postes recensés.
Le groupe est composé de la personne en charge du poste, la chargé d'affaire CAPSE, la garante de méthodologie IPNC, un observateur concerné par le poste et un responsable hiérarchique. Ces évaluations

comprennent des visites de terrain et du travail en salle pour formaliser les données qui tiennent compte de l'existant.
Quatre postes-tests différents ont été choisis pour valider la méthodologie à l'IPNC. Après un premier bilan de ces EvRP, la cotation a été modifiée pour répondre aux exigences de l'IPNC. La démarche a été ensuite étendue à l'ensemble des postes. L'étude a débuté en fin de l'année 2010 et devrait se terminer en juin 2011.

1.5. LE MEDIPOLE

Le projet de construction d'un nouvel hôpital dans lequel s'installera l'IPNC suit son cours. Les grands travaux de préparation du site et la poursuite du 2ème cycle du dialogue compétitif seront finalisés en 2011. Les options, comme le bloc P2+ et P3 de l'IPNC, ne rentrent pas dans ce cycle du dialogue compétitif et seront discutées ultérieurement.
La fin de travaux du médipôle est prévue pour le milieu de l'année 2015.

2. CONCLUSIONS 2010 / PERSPECTIVES 2011

Le service STG doit s'adapter continuellement à l'évolution de l'IPNC. L'année 2010 a été marquée par des changements importants dans l'organisation du service, les actions pour l'amélioration des conditions de travail, les études et le suivi des travaux, l'achat et l'installation des équipements techniques, l'optimisation des contrats de maintenance, l'évaluation des risques professionnels.

Un accent particulier a été mis en 2010 sur la communication interne par des messages intranet.

En fin d'année, le STG participe aux travaux et aux réflexions avec la direction : bilan de l'année (y compris CHSCT), nouveaux objectifs tenant compte de l'évolution de la situation externe (réglementation, techniques,…) et interne (prévisions de développement de certains services). Le plan des investissements pour l'année suivante est établi, en concertation avec les chefs de service, en tenant compte des priorités techniques et des résultats financiers de l'IPNC.

L'année 2011 sera encore une année de développement, mais aussi de consolidation des actions entreprises en 2010 (mise en place d'indicateurs de suivi Qualité). D'importantes modifications structurelles sont attendues (un open-space de bureaux), ainsi que des investissements techniques (automates de biologie moléculaire), et l'ouverture programmée en fin d'année d'un laboratoire P2+.

Le lecteur trouvera le détail des actions et perspectives du CHSCT dans le rapport 2010 de la direction de l'IPNC, disponible sur demande à diripnc@pasteur.nc

LA DEMARCHE QUALITE

1. ORGANIGRAMME FONCTIONNEL

La Direction
S. Chanteau

La RAQ
J.M Tuaiva

Le Comité Qualité

DAF : P. Cochou
Chercheur : M. Dupont-Rouzeyrol
Biologistes : R. Goursaud – S. Mermond –A.C. Gourinat
Responsable du LHAE : F. Urbes
Responsable du STG : V. Collin
Responsable d'assurance qualité : J.M. Tuaiva
Surveillantes de laboratoire : C. Lethezer – I. Lecuyer
Technicien de laboratoire : M. Lartigue
Agent administratif : L. Vedrenne

Les secteurs

Les Animateurs

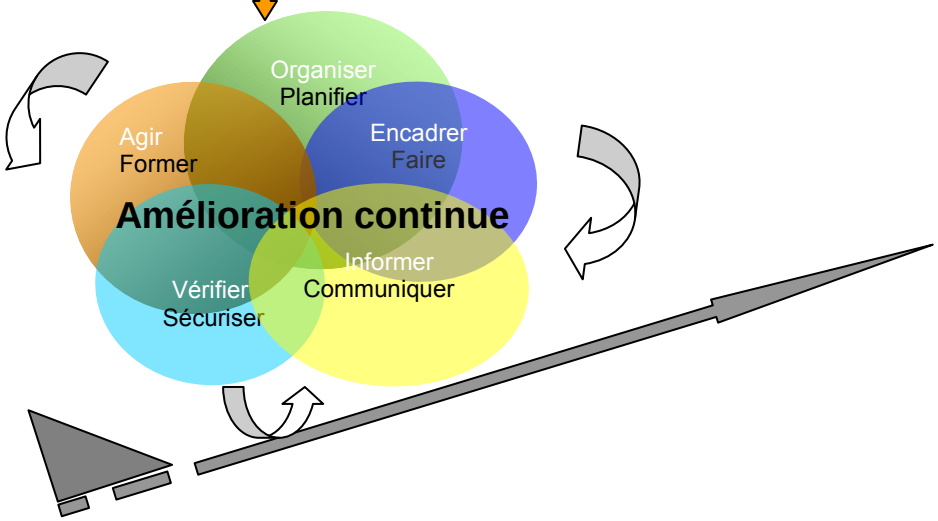
Responsable du LHAE : F.Urbes
Responsable Ass. Qualité : J.M. Tuaiva
Technicienne : C.Moux
Technicienne : P. Frette
Technicienne : K.Galby
Chercheur : M.D. Rouzeyrol
Surveillante : I.Lecuyer

Les Relais /Correspondants

Technicienne : F. Fragassi
(Secteur : bactériologie - garde -milieux - tri – hématologie)
Technicienne : S. Le Bihan
(Secteur : LHAE)
Secrétaire Médicale :C. Tauhola
(Secteur : accueil - infirmières - facturation)
Informaticien : L .Vedrenne
(Secteur : RH – comptabilité – informatique – STG)
Technicienne : O. O'connor
(Secteur : recherche - santé public)
Technicienne : S. Laffont
(Secteur : séro-viro- immuno)
Agent B. service C. Jone
(Secteur : les laveries)

Les Auditeurs

Responsable du LHAE : F. Urbes
Surveillantes de laboratoire :
C. Lethezer
Technicienne au LHAE : D.Vanin
Responsable Ass. Qualité :
J.M. Tuaiva



2. ENGAGEMENT DE LA DIRECTION ET DES CADRES

La Direction s'est engagée à donner un nouvel essor à la démarche qualité (DQ) en y intégrant les dimensions culturelles, stratégiques et techniques. Un comité qualité (CQ) a été créé avec comme but la construction de fondations solides basées sur des référentiels tels que le GBEA, HAS, COFRAC, ISO 15189, ISO 17025, etc. Ainsi, une politique qualité a été élaborée avec un ensemble de documents, supports des actions qualité. En 2009, ont été réalisées des actions de sensibilisation, de formations d'animateurs, d'auditeurs et de correspondants qualité, et la nomination d'une responsable assurance qualité (RAQ). L'IPNC est accompagné dans la DQ par un expert qualiticien de métropole, M. Olivier Michel du GRIEPS, également expert qualité externe du CHT G. Bourret depuis 10 ans. Il a consacré 11 jours en 2009 pour la mise en route de la démarche et l'encadrement du CQ et de la RAQ, et 2 jours en 2010 pour l'évaluation de l'état d'avancement de la DQ et l'évolution des compétences.

Le CQ est constitué de l'ensemble des cadres et de 2 agents non cadres. Il fonctionne sur un mode de management participatif, permettant aux membres du personnel d'être acteurs au sein de chaque service. Il a pour objectif de répondre à l'ensemble des exigences normatives et réglementaires, tout en assurant la sécurité et l'efficience de l'IPNC.

3. DEVELOPPEMENT DE LA QUALITE

3.1. LE MANAGEMENT EN LABORATOIRE

L'ensemble des acteurs de la DQ participent à la rédaction des documents Qualité internes, l'exploitation des informations et la mise en place des moyens matériels. Six réunions du CQ ont eu lieu en 2010 concrétisant les actions et les décisions de cette démarche.
En collaboration avec la RAQ, les relais correspondants et les animateurs se tiennent mutuellement informés des besoins, informent le personnel des évolutions, et se forment sur les pratiques rédactionnelles des documents et outils de la qualité.

3.2. LES ACTIONS

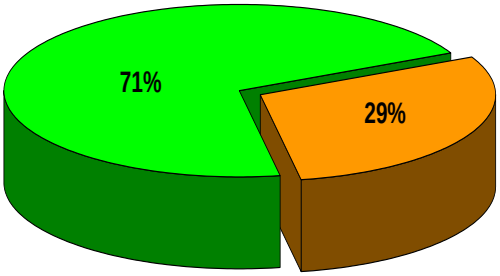
En 2009, 3 commissions d'une dizaine de personnes ont été mises en place pour étudier et rédiger les procédures, les modes opératoires et/ou des fiches d'enregistrements. Il s'agitt du traitement des déchets, de l'entretien des services, de la gestion des AES. L'ensemble des procédures a été validé et mis en application.

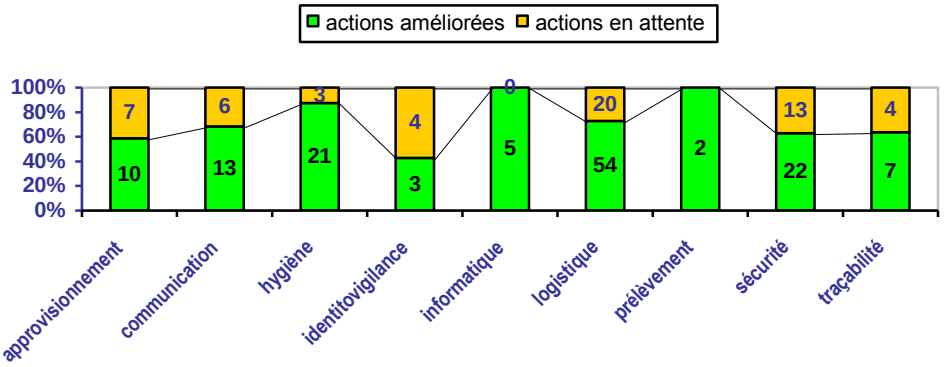
La pose de signalétiques réglementaires a été faite dans les zones de laboratoire comportant des risques potentiels.

Un logo a été adopté pour identifier les documents de la qualité à l'affichage.

3.3. LES EVENEMENTS INDESIRABLES

Concernant l'étude des événements indésirables, plusieurs cahiers de transmission de traçabilité ont été mis en place dans les services permettant de noter les désagréments rencontrés dans l'exécution des activités journalières. Ils permettent une bonne réactivité des gestionnaires de risques de chaque secteur pour mener des actions curatives et préventives sur du court terme.
La participation active du personnel est fortement engagée dans ce processus d'amélioration.
En 2010, 71 % des messages ont été traités avec satisfaction et 29% sont en attente d'être traités. Les évènements indésirables ont été classés en plusieurs familles pour faciliter le traitement des actions. L'identitovigilance et les prélèvements feront l'objet d'un traitement différentiel sur l'année par rapport aux analyses effectuées à l'IPNC.





3.4. LA GESTION ELECTRONIQUE DES DOCUMENTS (GED)

La GED a été revue en 2010, par l'un de nos informaticiens, M. Lilian Vedrenne, sous couvert du comité qualité. La GED est gérée par la RAQ. Actuellement 500 documents Qualité alimentent des domaines et sous domaines listés selon nos besoins et notifiés dans la politique qualité.
Les relais, animateurs et auditeurs ont suivi une formation d'utilisateurs. Ils donneront des instructions au reste du personnel pour la consultation et la recherche des documents.

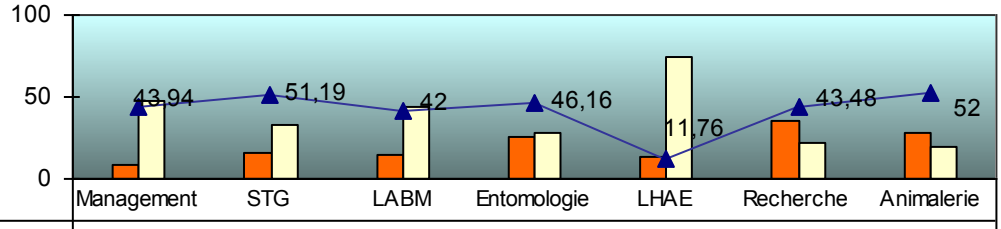
3.5. L 'AUTOEVALUATION

Un total de 446 critères issus du GBEA et de l'HAS (haute autorité de santé) ont été recueillis et 7 cahiers ont été rédigés correspondant au plus juste à chaque secteur identifié : LABM, recherche, animalerie, entomologie, etc.

La RAQ s'est chargée de planifier cette organisation sur l'année 2010, et l'étude s'est déroulée en 3 étapes :

- la constitution des 6 groupes de travail d'une dizaine de personnes,
- le travail par cahier sectoriel, de mi-mars à septembre 2010 pour le recueil des informations,
- et la restitution des résultats avec l'étude du plan d'actions qualité (PAQ) quinquennal en octobre 2010.

Chaque secteur a travaillé sur la rédaction de procédures inspirées du GBEA, en collaboration avec la RAQ. Le diagnostic de l'autoévaluation de 2010 a mis en évidence des besoins d'amélioration qui seront pris en compte et étalés sur une période de 5 ans à compter de 2011. La figure suivante représente en 2010, par secteur, le pourcentage des actions maîtrisées, non maîtrisées ou à améliorer.



	Management	STG	LABM	Entomologie	LHAE	Recherche	Animalerie
Non maitrisés	8,33	15,48	14,5	25,64	13,73	34,78	28
Très maitrisés	47,73	33,33	43,5	28,2	74,51	21,74	20
A améliorer	43,94	51,19	42	46,16	11,76	43,48	52

3.6. ACTION PAR SERVICE

Le PAQ quinquennal, validé avec l'expert qualiticien externe, a donné naissance à des projets annuels de service, sous forme de fiches d'actions aboutissant à des procédures, des modes opératoires ou des fiches ou d'indicateurs Qualité.
Deux cahiers transversaux (LABM et management) feront appel à des petits groupes de travail.
Ainsi, tous les secteurs seront valorisés et améliorés avant notre déménagement vers le médipôle de Koutio, sous la coordination du RAQ.

3.7. CONTROLE QUALITE EXTERNE

L'IPNC est inscrit à plusieurs contrôles de qualité externe dans les secteurs et domaines suivant en 2010 :

Secteurs	Centres de contrôles externes	Nombre d'envois par an	libellés
LE LHAE	Ass. AGLAE	4	Microbiologie de base sur eaux propres
		3	*Pseudomonas aeruginosa* et staphylocoques pathogène.sur eaux propres
		6	*Legionella pneumophila* par culture sur eaux propre et eaux de tours aérés
	RAEMA	2	Echantillon de poudre contaminée mimant un aliment.
L'hématologie	Ass. de biologie praticienne	4	cytologie -hématologie cellulaire
La bactériologie	Ass. de biologie praticienne	4	Bactériologie générale
		3	parasitologie
		3	mycologie
		3	mycoplasme
	Queensland mycobact. ref.labor.	1	10 lames ED en double aveugle
	WHO / GASP	1	antibiogramme N. gono.
La sérologie, immuno-virologie	Ass. de biologie praticienne	4	Toxoplasmose
		4	rubéole
		4	syphilis
		4	Hépatites A. B. C.
		4	SCMV
		4	Epstein Barr. virus
		3	*C. trachomatis* (séro+ PCR)
	National Sérology Référence Laboratory (NRL)	3	HIV
		3	Charge virale HIV
		3	*C. Trachomatis*./ gonocoque (PCR)
		3	PCR HSV 1 ET 2
	RCPA / QAP	2	Ag cryptocoque
		2	Amibiase
		3	Leptospirose
		2	Mycoplasme
	WHO / EQAP	2	Grippe aviaire/ saisonnière

Le contrôle de l'AFSSAPS s'effectue dans chaque domaine :
(bactériologie- parasitologie - hématologie-sérologie).

ACTIVITES DE DIAGNOSTIC

GENERALITES **22**

ACTIVITES DU CENTRE DE BIOLOGIE MEDICALE **23**

HEMATOLOGIE 24

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE 25

LABORATOIRE DE PARASITO-MYCOLOGIE 29

LABORATOIRES SERO-IMMUNOLOGIE ET DIAGNOSTIC SPECIALISE 30

LABORATOIRE D'HYGIENE DES ALIMENTS ET DE L'ENVIRONNEMENT **31**

GENERALITES

1. REPARTITION DES ACTIVITES DU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE ENTRE LES CHP ET LES EXTERNES

	Nombre de B en 2009			Nombre de B en 2010		
	C.H.P.* (%)	Externes (%)	Total (%)	C.H.P. *(%).	Externes(%)	Total (%)
Bactério./Parasito.	4 468 654 (87,02)	666 460 (12,98)	5 135 114 (100)	4 574 625 (86,36)	722 635 (13,64)	5 297 260 (100)
Hématologie	2 010235 (83,23)	405 175 (16,77)	2 415 410 (100)	2 214 855 (85,72)	368 825 (14,28)	2 583 680 (100)
Séro-immuno, diagn. spécialisé	1 435 395 (33,20)	2 887 510 (66,80)	4 322 905 (100)	1 399 795 (48,06)	1 512 965 (51,94)	2 912 760 (100)
Total	**7 914 284 (66,66)**	**3 959 145 (33,34)**	**11 873 429 (100)**	**8 189 275 (75,87)**	**2 604 425 (24,13)**	**10 793 700 (100)**

* CHP : Centres Hospitaliers de Nouvelle-Calédonie, regroupant le CHT (Gaston Bourret / Magenta), le CHS Albert Bousquet et le CHN (Koumac / Poindimié).

2. LE LABORATOIRE D'HYGIENE ET ENVIRONNEMENT (LHE)

En 2010, un total de **8 146** échantillons ont été analysés, en légère hausse par rapport à 2009. Ils se répartissent en échantillons alimentaires (34%), d'eaux (60%) et de produits industriels (6%).
Malgré les efforts de l'ensemble de l'équipe et le constant ajustement de nos tarifs, l'équilibre budgétaire du LHAE n'est toujours pas atteint.

ACTIVITES DU CENTRE DE BIOLOGIE MEDICALE

1. PRESENTATION GENERALE

Le Centre de Biologie Médicale de l'IPNC regroupe les principales disciplines du diagnostic de laboratoire, à l'exception de la biochimie et de l'anatomopathologie.

Parallèlement à ses activités de diagnostic, le laboratoire est partie prenante de nombreuses activités de santé publique, en collaboration avec la DASS, le CHT, les réseaux sentinelles grippe et dengue, l'Agence Sanitaire et Social et les laboratoires privés. Ces activités font l'objet de chapitres séparés (pages 34 à 73) :

- Point d'étape sur les bactéries multirésistantes en Nouvelle-Calédonie
- Surveillance de la résistance aux antibiotiques des gonocoques en Nouvelle-Calédonie
- Surveillance des pneumocoques en Nouvelle-Calédonie
- Surveillance des mycobactéries en Nouvelle-Calédonie
- Surveillance de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie et région du Pacifique insulaire
- Surveillance de la grippe et autres virus à tropisme respiratoire en Nouvelle-Calédonie
- Surveillance de l'infection VIH en Nouvelle-Calédonie
- Surveillance de la dengue en Nouvelle-Calédonie

2. EVOLUTION DES ACTIVITES DE BIOLOGIE MEDICALE

En 2010, l'activité totale du centre de biologie médicale s'élève 10,8 millions de B, soit une diminution de 9 % par rapport à 2009 qui a subi des épidémies exceptionnelles de dengue, de grippe et de leptospirose.

Laboratoires	**Nombre B 2007 (%)**	**Nombre B 2008 (%)**	**Nombre B 2009 (%)**	**Nombre B 2010 (%)**
Bactériologie & Parasitologie	5 089 426 (48,9)	4 700 258 (44,72)	5 135 114 (43,25)	5 297 260 (49,07)
Hématologie	2 391 475 (22,9)	2 244 155 (21,35)	2 415 410 (20,34)	2 583 680 (23,94)
Sérologie, virologie, diagnostic spécialisé	2 923 834 (28,1)	3 567 235 (33,93)	4 322 905 (36,41)	2 912 760 (26,99)
Total	**10 404 735 (100)**	**10 511 648 (100)**	**11 873 429 (100)**	**10 793 700 (100)**

3. CONTROLE QUALITE

Comme chaque année, les contrôles de qualité font appel :
- à l'AFSSAPS (Bactériologie - Parasitologie - Hématologie - Sérologie) ;
- à l'Association de Biologie Praticienne ;
- Pro.Bio.Qual (hémogrammes) ;
- à l'Organisation Mondiale de la Santé (HIV, grippe H5N1, Gonocoques) ;
- aux Centres Nationaux de Référence de l'IP à Paris ;
- aux CCOMS grippe, Melbourne ;
- NRL et RCPA (contrôles australiens).

HEMATOLOGIE

S. Mermond, V. Zurawski

L'activité du service d'hématologie est en augmentation par rapport aux années précédentes (+ 3,6% par rapport à 2009) ; elle représentait 23,4% de l'activité du LABM en 2010.
Le plateau technique a été amélioré avec l'acquisition d'un automate colorateur Aerospray® (Elitech™) et d'un troisième microscope (DM2000, Léica™) avec caméra intégrée pour faciliter l'enseignement et le transfert d'images vers nos collaborateurs australiens.
La routine automatisée est par ailleurs toujours réalisée sur Cell-Dyn 3700® (Abbott™) pour les hémogrammes, et sur Facscount® (Beckton-Dickinson™) pour le suivi des sous-populations lymphocytaires CD3-CD4-CD8.

1. CYTOLOGIE HEMATOLOGIQUE

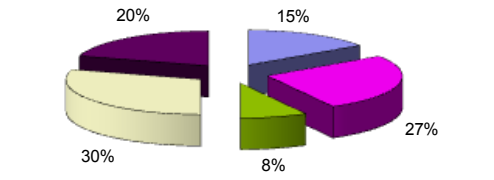
1.1. HEMOGRAMMES

Le nombre de demandes de NFS est resté stable en 2010 (62 640 contre 65 187 en 2009).
Cette relative stabilité pourrait correspondre en fait à une hausse globale d'activité, puisque l'année 2010 n'a pas été affectée par les phénomènes épidémiques des années précédentes (épidémie de dengue 4 en 2008-2009, épidémie de grippe pandémique A/H1N1v en 2009).

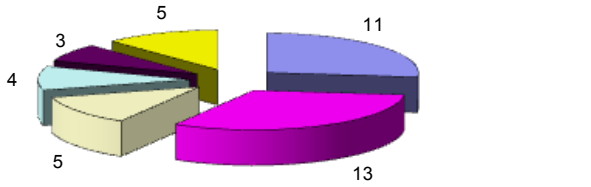
1.2. MYELOGRAMMES ET HEMOPATHIES

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Nombre de myélogrammes	143	172	136	168	128	117	165

Indications des myélogrammes



Contribution au diagnostic étiologique



2. PARASITOLOGIE SANGUINE

La demande de recherche de *Plasmodium* reste faible (115 demandes dont 12 sont positives). Il s'agit d'un paludisme d'importation en provenance du Vanuatu. Les espèces identifiées sont *P. falciparum* (n = 5) et *P. vivax* (n=7) dont un cas de co-infection avec *P. malariae*.

3. CONTROLE QUALITE EXTERNE (CQE)

Le laboratoire d'hématologie a participé au CQE organisé pour l'hémogramme par PRO.BIO.QUAL et au programme de formation continue de l'ABP pour la cytologie hématologique (e-Hématimage).

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

R. Goursaud, N. Rivoire, E. Chalus, C. Lethezer

1. INTRODUCTION

L'année 2010 a été marquée par un retour au calme après les épidémies des années passées. L'accent a donc pu être mis sur la révision des procédures et le développement de la démarche qualité, ainsi que sur l'évolution de l'organisation du laboratoire.

Le personnel du laboratoire de bactériologie est composé de 15 techniciens assurant 7 postes en journée et une présence continue 24/24h toute l'année. Son activité a produit 5,32 M de B (49% de l'activité du LABM), soit 3.6% de plus qu'en 2009.

Les activités de microbiologie représentent 97,5%de notre activité, 1,2% étant de la parasitologie des selles et le reste consacré à la mycologie et aux prélèvements de surface de l'hôpital. Le rapport détaillé est disponible sur demande à l'adresse courriel diripnc@pasteur.nc.
En ce qui concerne les mycobactéries, les données sont intégrées dans les activités de santé publique (pages 46 à 49).

2. HEMOCULTURES

C'est l'examen le plus prescrit (**10 781 analyses pour 4 576 patients**) en raison de notre recrutement hospitalier. Le chiffre est stable par rapport à 2009.

Près de 30% des isolements pour les adultes sont des germes de faible pathogénicité (*S. coagulase nég. ; microcoques, bacilles Gram +…*) pouvant être considérés comme une souillure, proportion qui atteint même 74% chez les enfants (*80 % des hémocultures pédiatriques sont prélevées chez des nourrissons de moins de 2 ans*).

2.1. HEMOCULTURES ADULTES

Pour 7 651 hémocultures (2686 patients), 1 143 germes ont été isolés chez 597 patients (22 %).

		Patients	Germes	
Entérobactéries		**214**	**363**	*32%*
Dont :	*Escherichia coli*	84	128	*11%*
	Klebsiella pneumoniae	38	71	*6%*
	Enterobacter cloacae	33	65	*6%*
	Proteus mirabilis	8	12	
	Serratia marcescens	10	18	
Streptocoques		**91**	**149**	*13%*
Dont :	*Streptococcus pneumoniae*	38	58	*5%*
	Streptocoque pyogenes Groupe A	27	44	*4%*
Bacteries anaerobies strictes		**24**	**29**	
Levures		**14**	**34**	*3%*
Dont :	*Candida albicans*	7	21	
Entérocoques		**20**	**37**	
Dont :	*Enterococcus faecalis (gpe D)*	16	31	
Staphylococcus aureus		100	213	*19%*
Pseudomonas aeruginosa		20	31	
Acinetobacterbaumannii		17	18	
Germes 'peu pathogènes'		**232**	**282**	*25%*
Dont :	*Staphylocoques coag. negative*	182	227	
	Autres	50	55	

2.2. HEMOCULTURESPEDIATRIQUES

Pour 2 136 hémocultures (1 441 patients), 346 germes ont été identifiés chez 261 patients (18%).

		Patients	Germes	
Streptocoques		**22**	**27**	*8%*
dont :	*Streptococcus pneumoniae*	*8*	*12*	
	Neisseria meningitidis	*4*	*4*	
	Streptocoque pyogenes Groupe A	*3*	*3*	
Staphylococcus aureus		22	28	*8%*
Entérobactéries		**7**	**8**	
Germes 'peu pathogènes'		**224**	**251**	*73%*
dont :	*Staphylococcus epidermidis*	*73*	*94*	*27%*
	Micrococcus sp	*53*	*54*	*16%*
	Staphylococcus hominis	*28*	*32*	
	Staphylococcus warneri	*32*	*33*	

3. COPROCULTURES

En 2010, **1 173 coprocultures** ont été effectuées pour 913 patients. A signaler :

- 16 salmonelles auxquelles il faut ajouter 18 souches transmises par d'autres laboratoires et 4 isolées de divers prélèvements. On a ainsi identifié 37 souches, dont principalement : *S. ser. weltevreden* ***(14)****, S. ser. typhimurium* ***(12)***
- 18 Shigelles :*flexneri* ***(3)*** *et sonnei* ***(15)*** *;* 3 autres ayant été identifiées à partir de souches transmises.
- 10 Campylobacter : *C. jejuni****(8)***
- 34 E. coli « entéro-pathogènes » sans prédominance d'un type particulier, les plus fréquents étant : *O114:K90* ***(4)****; O119:B14* ***(3)****; O127:B8* ***(3)****; O125:B15* ***(3)****; O126:B16* ***(3)***
- 31 Rotavirus : dont le ¾ sont survenus entre fin octobre et fin décembre, alors que l'acmé se situe généralement à la saison froide.

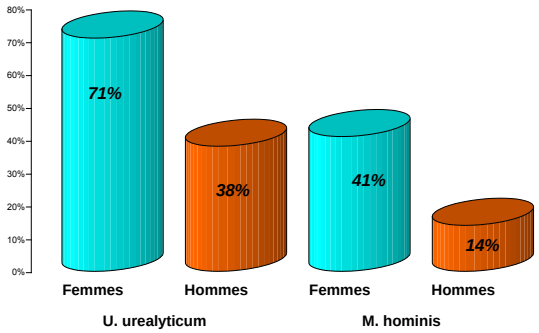
4. TRACTUS UROGENITAL

- **9 378 ECBU,** 2 082 germes isolés: 75% sont des Entérobactéries (41% *E coli*),
- **3 444 prélèvements vaginaux**, 1904 germes isolés : 57% levures, 22% streptocoques, 58% Entérobactéries A noter l'isolement de 71 *N. gonorrhoeae* (4% des germes isolés),
- **197 prélèvements urétraux**, 115 germes isolés dont 73 gonocoques (63% des germes isolés),
- **6 recherches de tréponèmes**, un seul positif sur microscopie à fond noir. Il persiste en Nouvelle-Calédonie des sérologies syphilitiques positives, cet examen mériterait sans doute d'être plus fréquemment prescrit.

- **894 recherches de mycoplasmes uro-génitaux**. dont 690 retrouvent *Ureaplasma urealyticum* (76%) et 381 *Mycoplasma hominis* (42%)

La population féminine représente un réservoir important de contamination par *U. urealyticum* comme le montre le graphique ci-contre.

Pourcentage de positivité des MUG selon le sexe



5. LIQUIDES BIOLOGIQUES

Au total, **1 176 liquides biologiques** ont été analysés et proviennent en quasi-totalité d'explorations hospitalières. Sur les **529 LCR examinés (455 patients)**, 18 germes ont été isolés dont un méningocoque (*groupe B*) chez 4 patients, et un pneumocoque chez 7 autres.

6. SECRETIONS RESPIRATOIRES

- **270 prélèvements profonds respiratoires**, 115 germes isolés dont 17% d' *H. influenzae,* 22% d'*Entérobactéries*, 17% de *Pseudomonas aeruginosa,* 10% de *Staphyloccocus aureus*.
- **4 158 prélèvements superficiels respiratoires** (2 670 expectorations et 1 488 aspirations bronchiques) en quasi-totalité d'origine hospitalière, dont 27% d'aspirations au titre de la détection des infections nosocomiales : 11575 germes isolés dont 26% de *H. influenzae*, 22% d'Entérobactéries, 12% de *P. aeruginosa,* 9% de pneumocoques, 6% de *Branhamella catarrhalis* et 6% de *S. aureus.*
- 76 recherches d'Actinomycètes et 30 recherches d'histoplasmes, aucun positif.

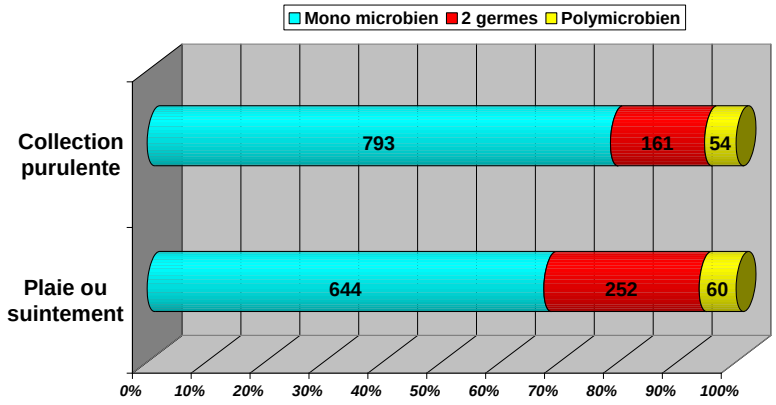
7. DISPOSITIFS DIVERS & BIOPSIES

Ils sont représentés par **180 dispositifs intra-tissulaires** (stérilets, prothèses, drains), **612 cathéters** ou chambres implantables, **113 dispositifs intra-cavitaires** (sondes d'intubation, sondes urinaires). **82 fragments biopsiques** ont été également examinés, dont 1/3 présentait une flore monomorphe.

8. INFECTIONS TISSULAIRES

En fonction du contexte, un des trois types d'investigation prévus à la table nationale de codage de biologie est retenu : « Suppurations profondes », (*N° NABM = 5224*) « Suintements superficiels » (*N°= 5215*) et « Lésions cutanées sèches » (*N°= 5214*).

Répartition de la flore des échantillons tissulaires



- 1 426 suppurations profondes
(49% S. aureus, 14% de Strepto A 32% d'entérobactéries,)

- 1 311 suintements superficiels
(57% S. aureus, 18%de Strepto A 29% d'entérobactéries,)

- 5 lésions cutanées sèches

9. PRELEVEMENTS OCULAIRES

Au total, 189 prélèvements analysés (**169 conjonctivites, 20 lésions cornéennes)**. Plus de la moitié des conjonctivites explorées étaient prélevées chez des enfants de moins de 2 ans

Les germes pathogènes les plus fréquemment retrouvés dans les lésions cornéennes (9 sur 20) sont *Pseudomonas aeruginosa* (3) *Fusarium* (2) et S. aureus (1). Dans les conjonctivites (64 sur 169), on retrouve essentiellement :

Staphylococcus aureus	20	*Haemophilus influenzae*	11
Entérobactéries	12	*Streptococcus pneumoniae*	7

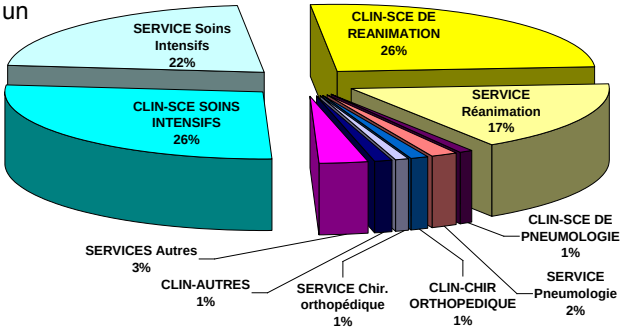
10. PRELEVEMENTS PROSPECTIFS DANS LE CADRE DU CLIN

Trois sortes d'échantillons sont prélevées chez les patients hospitalisés dans les services à risques pour rechercher un portage de bactéries multirésistantes (BMR).

Plus de 500 patients, dont les échantillons étaient adressés pour un dépistage, ont ainsi eu un **prélèvement respiratoire** (662 échantillons), un **ECBU** (867) et/ou un **écouvillonnage rectal** (909).

Toutefois, ces chiffres sont probablement sous-estimés, puisque pour ce dernier type d'échantillon 720 autres échantillons ont été adressés dans un cadre diagnostique alors que l'analyse n'est prévue que pour un dépistage ciblé…

Répartition des prescripteurs



Principales BMR identifiées dans les écouvillonnages rectaux (tous services)

Entérobactéries avec ßLSE		**47**	***3%***
	dont : *Klebsiella pneumoniae*	*6*	
	Enterobacter cloacae	*27*	
	Escherichia coli	*13*	
Entérobactéries avec Case HN		**77**	***5%***
	dont : *Enterobacter cloacae*	*34*	
	Escherichia coli	*15*	
	Enterobacter aerogenes	*12*	
Autres BMR		**22**	
	Acinetobacter baumannii	*14*	
	Pseudomonas aeruginosa	*6*	
SARM (Pr^{vt} rectal)	*Staphylococcus aureus MR*	**64**	*4%*
SARM (nez)	*Staphylococcus aureus MR*	**15**	*12%*

Seuls 4% des prélèvements rectaux ont permis la mise en évidence de « SARM », alors que 12% ont été retrouvés dans des prélèvements de nez, environ 10 fois moins prescrits.

Lorsque le « SARM » était recherché à la fois dans le nez et dans le pharynx, on ne le retrouvait dans le pharynx que dans un tiers des cas, ce qui confirme également le manque de sensibilité de ce site comparé au nez.

Nous avons dépisté quatre patients porteurs d'une souche d'*Enterococcus. faecium* résistante à la vancomycine, dont deux n'ont été retrouvés que dans des prélèvements urinaires. Ces 4 souches présentaient toutes un profil « *Van* B »

Cette année encore, le service de bactériologie a surveillé l'environnement dans les services cliniques : 27 « systèmes de climatisation » (132 échantillons), 75 « surfaces diverses » (885 échantillons) ont été analysés, mais aucun bloc opératoire, en raison d'un problème de personnel au CHT.

Pour une meilleure cohérence et efficacité du suivi de l'hygiène hospitalière, il est prévu que cette activité soit transférée en 2011 au laboratoire d'hygiène de l'environnement (LHE) de l'IPNC, qui est déjà en charge de l'analyse des eaux et des aliments du CHT.

11. HELICOBACTERPYLORI

Sur **26 biopsies analysées** (18 patients**)**, *Helicobacter pylor*i a été mis en évidence chez 8 patients.

12. IDENTIFICATIONS, ANTIBIOGRAMMES OU SEROTYPAGE DE BACTERIES

En dehors des réseaux pneumocoques et gonocoques, nous avons reçu 88 souches pour l'identification et/ou l'antibiogramme ou le typage sérologique : 15 en provenance des laboratoires des hôpitaux du Nord et 73 des laboratoires privés.

A la demande de la DASS, nous avons en outre réalisé une recherche de *Corynebacterium diphteriae* dans des prélèvements de gorge de 29 patients, bien que la souche isolée sur le cas index se soit révélée non toxinogène.

LABORATOIRE DE PARASITO-MYCOLOGIE

R. Goursaud, C. Lethezer

1. MYCOLOGIE

Pour faciliter l'organisation, le poste « Mycologie » ne concerne que les champignons dont la croissance nécessite généralement plus de 48 h. Les levures sont donc exclues de ce chapitre, sauf dans le cas de lésions superficielles dont l'origine mycosique est suspectée.

Sur 660 analyses effectuées**,** 157 champignons ont été identifiés (*139 patients*). Ces analyses sont prescrites par les Centres Hospitaliers de Nouméa dans 2/3 des cas.

Les principaux champignons isolés sont détaillés ci-dessous.

Levures (hors Resp.)			**45**
	dont :	*Candida parapsilosis*	*16*
		Candida albicans	*9*
Dermatophytes			**49**
	dont :	*Trichophyton rubrum*	*31*
		Trichophyton mentagrophytes	*10*
Aspergillus			**24**
	dont :	*Aspergillus niger*	*14*
		Aspergillus fumigatus	*5*
Moisissures			**26**
	dont :	*Fusarium*	9
		Sporothrix schenckii	3

2. PARASITOLOGIE DES SELLES

Sur 801 examens de selles, 92 parasites ont été retrouvés, dont les principaux sont reportés dans le tableau ci-après. On ne dépiste qu'un faible poly-parasitisme (*14 cas de poly infestation*).

Nématodes intestinaux			**39**	
	dont :	*Ankylostome*	*25*	*27%*
		Strongyloide stercoralis (Anguillule)	*10*	*11%*
		Ascaris lumbricoide	*3*	
		Trichuris trichiura (Trichocephale)	*1*	
Protozoaires			**53**	
	dont :	*Endolimax nanus*	*17*	*18%*
		Entamoeba coli	*10*	
		Blastocystis hominis	*9*	
		Giardia intestinalis (Lamblia)	*8*	
		Entamoeba histolytica	*4*	

3. MENINGITES A EOSINOPHILES

En 2010, nous avons réalisé la formule cytologique de **112 LCR (91 patients)**. Parmi ceux-ci, nous avons considéré tous ceux présentant une éosinophilie supérieure ou égale à 20 % (thèse de G. Legrand, 1996).

Au total, **trois patients** répondaient à ce critère et avaient respectivement 36%, 39% et 83% d'éosinophiles, mais trois autres avaient respectivement 15% et 14% et un tableau clinique compatible. Le nombre de méningites à éosinophiles est stable depuis 5 ans.

LABORATOIRES SERO-IMMUNOLOGIE ET DIAGNOSTIC SPECIALISE

AC. Gourinat, I. Lecuyer

Les données détaillées de ces laboratoires sont disponibles sur demande à l'adresse courriel ***diripnc@pasteur.nc***.

1. LABORATOIRE SERO-IMMUNOLOGIE

Pour les maladies infectieuses, l'IPNC pratique les sérodiagnostics suivants :
- **Les infections bactériennes** : tréponématoses, chlamydioses, salmonellose, brucellose, infections à mycoplasmes, à streptocoques.

- **Les infections parasitaires** : toxoplasmose, amibiase, paludisme. La toxoplasmose est un problème de santé publique important sur le territoire. Le nombre de séroconversions constatées en cours de grossesse est au moins 1.5 fois plus élevé en Nouvelle-Calédonie qu'en France métropolitaine. Afin d'aider à la résolution des cas sérologiques difficiles, et pour limiter les traitements parasitostatiques inutiles, l'IPNC propose deux tests supplémentaires : la mesure de l'avidité des IgG et la recherche couplée des IgM et des IgA par ISAGA.

- **Les infections virales** : rubéole, hépatites virales, mononucléose infectieuse, infection à CMV, herpès simplex virus et varicelle-zona.

Pour les pathologies non infectieuses, l'IPNC réalise le dosage des marqueurs tumoraux, et l'exploration des phénomènes immuno-pathologiques (protéines de l'inflammation, recherche d'auto-anticorps, allergies).

2. LABORATOIRE DE DIAGNOSTIC SPECIALISE

L'essentiel de l'activité de ce laboratoire est centré sur le diagnostic de la dengue, de la grippe, de la leptospirose et du HIV qui seront développés dans les chapitres suivants. Le regroupement de ces maladies dans ce même laboratoire trouve sa cohérence par l'utilisation d'un plateau technique commun, essentiellement centré sur les techniques d'amplification génique, souvent issues des développements et transferts effectués par les laboratoires de recherche de l'IPNC. De fait, il requiert de la part de son personnel, compétence et disponibilité car il doit sans cesse s'adapter à l'évolution des épidémies, ou faire face aux urgences en cas d'importation de nouveaux virus (comme la grippe A(H1N1) en 2009).
De nouvelles techniques de diagnostic par amplification génique en temps réel ont été mises en place courant 2010, dans le but d'apporter une réponse rapide aux cliniciens pour permettre une meilleure prise en charge du patient. Il s'agit du diagnostic des infections par cytomégalovirus, entérovirus et par le virus de la varicelle-zona.

Les autres examens spécialisés réalisés à l'IPNC sont :
- le diagnostic des **infections à herpes simplex virus 1 et 2** (immunofluorescence et recherche des génomes viraux par RT PCR sur Light Cycler©),
- le diagnostic des **viroses respiratoires** (immunofluorescence et RT-PCR) ;
- le diagnostic des **pneumopathies atypiques** (*Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydophila pneumonia* par RT-PCR) ;
- le diagnostic des **infections à *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*** *: RT-* PCR.

3. SURVEILLANCE DE LA POLIOMYELITE EN NOUVELLE-CALEDONIE

Depuis plusieurs années, l'IPNC participe à la surveillance de l'éradication de la poliomyélite en Nouvelle-Calédonie. Pour toute suspicion de paralysie flasque aiguë, des prélèvements de selles sont envoyés au Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory à Melbourne, centre de référence de la poliomyélite. En 2010, 2 envois ont été réalisés. Les résultats étaient tous négatifs.

LABORATOIRE D'HYGIENE DES ALIMENTS ET DE L'ENVIRONNEMENT

F. Urbes

1. ACTIVITE ANALYTIQUE

En 2010, un total de **8 146** échantillons ont été analysés, soit un nombre d'échantillons en légère hausse par rapport à 2009 (7 723 échantillons). Ils se répartissent en échantillons alimentaires (34%), d'eaux (60%) et de produits industriels (6%).

1.1. HYGIENE HOSPITALIERE

Les analyses sont effectuées dans le cadre de la surveillance de l'hygiène hospitalière. Les prélèvements se répartissent en aliments et eaux. Les analyses d'eaux (n= 683) sont stables par rapport à 2009 :

- eaux utilisées pour les soins : analyses très complètes incluant les paramètres Staphylocoques pathogènes et *Pseudomonas aeruginosa*, pour la lutte contre les infections nosocomiales,
- eaux utilisées au service d'hémodialyse, incluant le dosage des endotoxines,
- recherches de Légionelles sur les eaux des ballons d'eaux chaudes,
- analyse classique de potabilité (type D1) de l'eau de boisson, des cuisines et des services,
- eaux de rinçage des endoscopes avec recherche de mycobactéries,
- analyse de stérilité des collyres produits par la pharmacie.

Le taux d'analyses présentant une qualité non-conforme est de 8 %.

En ce qui concerne les aliments, sur les 169 prélèvements analysés (Hôpital de Magenta et points de distribution satellite), **18% ne présentaient pas de résultats microbiologiques satisfaisants**.

1.2. AUTOCONTROLES

1.2.1. ALIMENTS

2 509 échantillons alimentaires ont été analysés (nombre en diminution par rapport à 2009, essentiellement du fait d'une forte diminution des analyses de crevettes pour l'export en raison d'une forte chute de leur production). Les analyses concernent la restauration à caractère social (crèches, collèges, lycées, cliniques) et commerciale, des artisans et entreprises agro-alimentaires. Ces analyses, réalisées à la demande de clients privés, rentrent dans le cadre des demandes d'agréments d'hygiène pour les entreprises agro-alimentaires suivies par les Services Vétérinaires du territoire (SIVAP), des plans d'autocontrôles et des contrôles obligatoires pour l'exportation des produits calédoniens (crevettes, thon et cerf). La plupart des analyses étaient satisfaisantes.

1.2.2. EAUX

3 726 échantillons d'eaux ont été analysés, parmi lesquels :

- eaux de piscine,
- eaux de baignades (mer, rivière),
- eaux de boisson (bateaux, société agro-alimentaires, particuliers, collectivités),
- eaux de process industriel,
- eaux d'écloseries ou de bassins de crevettes,
- recherche de Légionelles (eaux chaudes, eaux de tours-aéroréfrigérantes).

Ces analyses sont en forte augmentation par rapport à 2009 (23%). Cette croissance s'explique essentiellement par une hausse des analyses du suivi microbien des eaux d'élevage des crevettes et de nouvelles structures qui ont fait appel à nos services.

La recherche de *Legionella* a été effectuée pour le compte principalement d'industriels (avec une majorité de recherches pour les tours-aéroréfrigérantes). L'IPNC est le seul laboratoire de Nouvelle-Calédonie à proposer cette analyse. Le taux de prélèvements positifs en *Legionella pneumophila* et spp. (21%) est en diminution par rapport à 2009 (32%), du fait d'un meilleur suivi des industriels par la DIMENC (Direction de l'Industrie, des Mines et de l'Energie de Nouvelle-Calédonie). Cependant, le 1er cas humain a été diagnostiqué en juillet 2010.

1.2.3. PRODUITS INDUSTRIELS

Nous avons effectué 523 analyses de produits industriels pour le compte d'une entreprise locale de produits sous licence internationale, et quelques analyses diverses.

1.3. CONTROLES OFFICIELS

Il s'agit des analyses de potabilité de l'eau, des eaux de baignade et des eaux de piscine (n= 530), réalisées pour le compte de la DASS en Nouvelle-Calédonie, et pour la DAVAR (Direction des Affaires Vétérinaires, Agricoles et Rurales). Ce chiffre est stable par rapport à 2010. Les campagnes d'état de la ressource en eau ont été moins nombreuses, mais la délibération sur la qualité des eaux de baignade et des eaux de piscine a été adoptée en juin 2010, obligeant les collectivités et les entreprises privées recevant du public à garantir la bonne qualité de leurs eaux de baignade (mer et piscine).

2. ACTIVITES DE FORMATION, D'AUDITS, DE CONSEIL

En 2010, nous avons assuré des formations en hygiène alimentaire, aux techniques de prélèvement d'eau et aux bonnes pratiques de laboratoire pour la recherche de flore spécifique aux eaux des écloseries de crevette.
Le LHAE assure pour le compte d'un organisme certificateur métropolitain des audits qualité de la filière crevette, depuis leur production jusqu'à leur transformation.
Le laboratoire propose également cette prestation auprès des différentes entreprises locales, en complément des analyses microbiologiques.
En collaboration avec le SIVAP (Service d'Inspection Vétérinaire Agroalimentaire et Phytosanitaire), le LNC (Laboratoire de Nouvelle-Calédonie) et Agrocontrol (laboratoire privé d'analyses alimentaires), nous participons aux réunions concernant la modification des textes réglementaires sur la salubrité des denrées alimentaires en Nouvelle-Calédonie.

3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Malgré les efforts de l'ensemble de l'équipe et le constant ajustement de nos tarifs, le LHAE est à nouveau déficitaire. Ceci peut s'expliquer par la forte diminution du nombre d'analyses de crevettes, par la perte de quelques marchés au profit de la concurrence, par de nombreuses réparations ou remplacement de matériels au sein du laboratoire, par le recrutement d'un préleveur.
Dans un souci d'un meilleur suivi de l'hygiène hospitalière, notre laboratoire reprendra en 2011 l'ensemble des analyses environnementales des hôpitaux (hors cliniques privées). Les analyses courantes restent notre activité principale, mais nous avons des activités spécificités (recherche des Légionnelles, des endotoxines, accompagnement de la filière crevette) et prenons en compte les besoins particuliers exprimés par nos clients.

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

POINT D'ETAPE SUR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES EN NOUVELLE-CALEDONIE 34

SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES GONOCOQUES EN NOUVELLE-CALEDONIE 39

SURVEILLANCE DU PNEUMOCOQUE EN NOUVELLE-CALEDONIE 43

SURVEILLANCE DES MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 46

TUBERCULOSE & MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE 46

ACTIVITES REGIONALES : ETUDE DES SOUCHES DE *M. TUBERCULOSIS* ISOLEES A WALLIS ET FUTUNA 49

SURVEILLANCE DE LA LEPTOSPIROSE EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 50

SURVEILLANCE DE LA GRIPPE ET AUTRES VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE EN NOUVELLE-CALEDONIE 58

SURVEILLANCE DU VIH EN NOUVELLE-CALEDONIE 63

SURVEILLANCE DE LA DENGUE EN NOUVELLE-CALEDONIE 67

SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE DES MOUSTIQUES VECTEURS DE LA DENGUE 74

REGISTRE DU CANCER DE NOUVELLE-CALEDONIE 85

POINT D'ETAPE SUR LES BACTERIES MULTIRESISTANTES EN NOUVELLE-CALEDONIE 2005-2010

Responsable :
– Régis GOURSAUD, médecin biologiste, LABM-bactériologie, IPNC
– Eric D'ORTENZIO, médecin épidémiologiste, Unité d'Épidémiologie des Maladies Infectieuses, IPNC

Collaborateurs :
– Sylvain MERMOND, médecin biologiste, IPNC
– Élodie CHALUS, Nathalie RIVOIRE, Nicolas ROQUIGNY, Julie SCOTET, internes en biologie, IPNC
– Ann-Claire GOURINAT, Aurélie GUIGON, Simon LE HELLO, pharmaciens biologistes, IPNC
– Camille LETHEZER, surveillante, IPNC

Collaborateurs hôpitaux:
– Flore LACASSIN, référente infectiologue, présidente du CLIN, service de médecine interne, CHT
– Blandine VAUDEL, Pharmacienne hygiéniste, CHT

Cofinancement
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)

1. INTRODUCTION

Le laboratoire de bactériologie de l'IPNC assure une mission de surveillance des bactéries multirésistantes **(BMR), des germes de l'environnement à fort potentiel épidémique** ou ceux décrits pour leurs résistances émergentes.

Il est à noter que certaines bactéries, notamment **les pneumocoques, les gonocoques et le bacille de la tuberculose**, conservent encore en Nouvelle-Calédonie une sensibilité peu usuelle. Les données concernant ces germes sont rapportées dans des chapitres dédiés du présent rapport annuel d'activités.

Deux sources de données sont exploitées pour la description des bactéries multirésistantes :

- les isolats provenant des activités de diagnostic,
- les isolats provenant des activités de dépistage mises en place par le CLIN.

Le laboratoire de bactériologie a également une mission d'expertise des mécanismes lorsque le germe présente un profil particulier, laissant suspecter l'acquisition de plasmides susceptibles de diffuser à d'autres germes : ß-lactamases à spectre étendu, carbapénémases, etc.

L'usage raisonné de l'antibiothérapie présomptive et les précautions d'hygiène des soins permettent de prévenir l'émergence de ces résistances. Le suivi régulier de l'incidence des BMR est essentiel pour en suivre l'impact.

Face à l'accroissement mondial des résistances et à la diffusion inquiétante de nouveaux mécanismes, le laboratoire joue certes un rôle primordial pour l'expertise et l'alerte, mais l'implication de tous les professionnels de la santé coordonnée par les autorités sanitaires est nécessaire pour en limiter l'impact en Nouvelle-Calédonie.

2. ÉVOLUTION DU CONTEXTE DE SURVEILLANCE

Avec le recrutement au CHT d'une hygiéniste, le CLIN adoptera en 2011 les recommandations nationales publiées en 2009 par la Société Française d'Hygiène Hospitalière.

L'année 2010 est une année charnière. Le CLIN préconisait le dépistage systématique des BMR sur divers prélèvements de patients hospitalisés dans certains des services à risques : échantillons urinaires et respiratoires, les plaies et suppurations ouvertes, et l'écouvillonnage rectal. Seul ce dernier était réellement un dépistage. Les autres échantillons ont été considérés comme des prélèvements de diagnostic.

A compter de 2011, les dépistages seront réalisés sur 3 écouvillons : rectal, nasal et pharyngé. Les BMR recherchées seront également ciblées selon les dernières recommandations de la Société Française d'Hygiène Hospitalière.

C'est ainsi que nous présentons séparément l'analyse synthétique des écouvillonnages rectaux sur les six dernières années (2005-2010), puis nous exposerons, parmi les échantillons les plus significatifs, les pourcentages de BMR isolées d'autres sites afin de conserver un moyen de comparaison entre l'ancien et le nouveau protocole.

3. BACTERIES MULTIRESISTANTES DEPISTEES DANS LES ECOUVILLONNAGES RECTAUX 2005-2010

3.1. MATERIEL ET METHODES

Le dépistage ciblait le portage :
- d'entérobactéries porteuses d'une ß-lactamase de spectre étendu (EBLSE) ou d'une céphalosporinase de haut niveau (CaseHN),
- de bactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) ;
- d'entérocoques résistants à la vancomycine (VRE).
- de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM). Les résultats de ce germe, peu présent dans l'écouvillonnage rectal, seront présentés dans la deuxième partie.

Chaque écouvillon était ensemencé sur 4 géloses sélectives :
- gélose Mac Conkey additionnée de ceftazidime ;
- gélose Drigalsky additionnée céfotaxime ;
- gélose chromogène pour les staphylocoques additionnée de méticilline ;
- gélose chromogène pour les entérocoques additionnée de vancomycine.

Les germes suspects ont été identifiés et leur mécanisme de résistance confirmé par la recherche d'images de synergie en diffusion (EBLSE), ou la mesure de la CMI à la vancomycine et la téicoplanine (VRE) par les méthodes de référence (E-test).

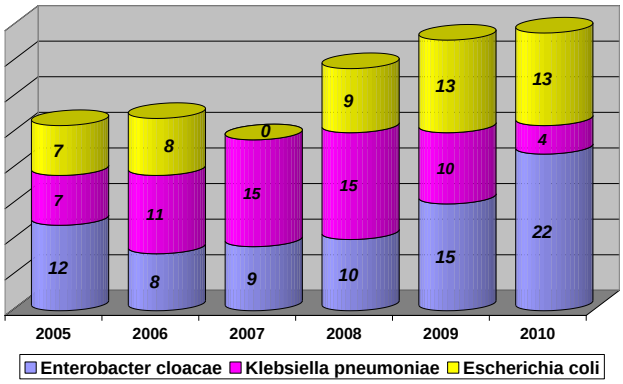
3.2. RESULTATS

Entre 2005 et 2010, 7 207 échantillonnages rectaux ont été analysés, dont 94% provenaient des seuls services de soins critiques : (réanimation : 48% et soins intensifs : 46%).

Ont été identifiées dans les conditions décrites :
- 201 EBLSE,
- 304 entérobactéries présentant une CaseHN,
- 8 VRE,
- 85 autres BMR.

Parmi les dix espèces d'**EBLSE** retrouvées, 3 espèces représentaient 90% des isolats, en augmentation annuelle de 50% : *E. cloacae, K. pneumoniae, E. coli.*

Principales EBSLE



Parmi les 13 espèces d'entérobactéries **CaseHN**, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* et *E. coli* représentent 80% des isolats, sans augmentation annuelle notable. *E. cloacae* représente à lui seul 53% des CaseHN.

Aucun **VRE** n'avait été isolé depuis la description du premier *E. faecalis* porteur du gène *VanA* en 2001.La survenue d'une épidémie en 2007 a permis d'isoler 8 VRE. Cette épidémie, dont l'origine n'a pas été retrouvée, a été rapidement contrôlée. Elle a concerné 8 patients dont 7 hébergeaient le même clone de *E. faecium* porteur du génotype de résistance *VanB*. Le 8ème VRE appartenait à un clone différent, possiblement originaire d'Australie. Depuis, un autre malade a été trouvé porteur en 2009 et 4 autres en 2010; l'analyse clonale de ces souches est en cours.

Pour finir, parmi les autres **BMR** retrouvées au dépistage systématique par prélèvement rectal figurent 56 *Acinetobacter baumannii* de phénotype V (résistant à toutes les ß-lactamines et à l'imipénème) produisant une carbapébémase OXA-23 (Le Hello *et al*[1].), et 26 *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la ceftazidime et/ou à l'imipénème, ainsi que 4 *Stenotrophomonas maltophilia*.

3.3. DISCUSSION

Une conférence de consensus sur la prévention de la transmission croisée a été publiée en avril 2009[2] par la Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH), à la suite d'une mission de réactualisation qui lui a été confiée par le Comité Technique National des Infections Nosocomiales. Plusieurs des recommandations d'experts concernent la politique de dépistage des BMR, préconisant notamment la définition des germes ciblés (R40) et des secteurs surveillés (R41), ainsi que la réactualisation régulière de ces définitions. Ces recommandations ont été partiellement suivies par le CLIN des CHT de Nouméa. Néanmoins, deux des principaux services à risque ont réalisé un dépistage satisfaisant, qui sera aménagé en 2011 pour se rapprocher des nouvelles recommandations.

[1] Le Hello S, Falcot V, Lacassin F, Baumann F, Nordmann P, Naas T. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacterbaumannii*in New Caledonia.ClinMicrobiol Infect. 2008 Oct;14(10):977-81.

[2]Hygiènes, 2009 vol XVII, n° 2

En 6 ans, **201 EBLSE** ont été retrouvées chez 170 patients. Ce sont les résistances acquises les plus préoccupantes, car les gènes codant ces enzymes de résistance sont portés par des plasmides facilement transférables à d'autres espèces bactériennes dont certaines très virulentes et/ou déjà résistantes à d'autres molécules. Il n'est toutefois pas possible de comparer nos taux d'incidence à ceux des hôpitaux français, les modalités de dépistage de ces résistances ne faisant pas l'unanimité.

La SFHH ne recommandait pas de dépister les CaseHN, mais deux raisons nous avaient conduits à maintenir le dépistage de ces résistances : la possibilité d'une ßLSE masquée sur le test en diffusion chez les *Enterobacter* porteurs d'une céphalosporinase chromosomique, et l'existence, toute rare soit elle, d'authentiques AmpC codées par des plasmides transférables. Leur signalement restera toutefois incontournable dans les échantillons diagnostiques.

4. SURVEILLANCE DES BMR AU SEIN DES ISOLATS CLINIQUES (2010)

4.1. MATERIEL ET METHODES

L'ensemble des méthodes employées au laboratoire de microbiologie, outre le respect du GBEA, reposent principalement sur trois autres référentiels : la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM) de Nouvelle-Calédonie, (*Version 27 de Nov. 2007 de la NABM française*), le Référentiel en Microbiologie Médicale (REMIC V2010) et les recommandations annuelles du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).

Chaque prescription donne lieu à l'enregistrement d'un code analyse générant, via le système informatique du laboratoire (SIL), une fiche de paillasse individualisée sur laquelle chaque étape est indiquée. Cette fiche est scannée et les résultats distribués en temps réel aux services hospitaliers via un serveur accessible dans chaque unité.

Un des deux logiciels experts est mis en œuvre selon l'automate utilisé (MiniApi® ou Vitek2C®, BioMérieux). L'isolement d'une BMR donne lieu à validation par le biologiste (Contrôle de pureté et analyse de l'expertise), et lorsque le phénotype n'est pas totalement identifié, un contrôle en diffusion est réalisé (recherche d'images de synergie et/ou mesure des CMI par E-Test®). Fin 2010, ont été également prévus des tests supplémentaires destinés à révéler d'éventuelles métallo-béta-lactamases dont la circulation mondiale s'accroît.

Une fois identifié, le mécanisme de résistance est transmis immédiatement au CHT via le serveur, doublé par une édition mentionnant la recommandation d'isolement du malade à l'aide d'un tampon rouge. Ces modalités de diffusion des résultats sont actuellement en cours de révision par le CLIN et seront vraisemblablement ajustées.

4.2. RESULTATS

4.2.1. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTANT A LA METICILLINE (SARM)

En 2010, nous avons isolé 1 671 souches de *S. aureus* chez 1 195 patients différents dont 150 (12,6%) hébergeaient un SARM, ces valeurs intégrant les patients de soins critiques (réanimation polyvalente ou soins intensifs ou USIC cardio ou réanimation néonatale), dépistés pour le CLIN sur des prélèvements urinaires et respiratoires hebdomadaires systématiques.

Dans les hôpitaux généraux de Nouméa (CHT + Magenta), on retrouve, en 2010, 137 patients porteurs de SARM, dont 19 étaient hospitalisés en soins critiques et 118 en court séjour, soit un taux d'incidence de 1,7 pour 1000 journées d'hospitalisation en soins critiques, et de 1,01 pour 1000 journées d'hospitalisation en court séjour.

Pour mémoire, en 2007, le taux d'incidence était de 1,94 pour 1000 journées d'hospitalisation en soins critiques et de 0,86 pour 1000 journées d'hospitalisation en court séjour.

Le pourcentage de **SARM** parmi tous les isolats de *S. aureus* est plus faible en Nouvelle-Calédonie que celui relevé en France par l'ONERBA[3] (11,3% Vs 25,7% en 2007, par exemple).

Entre 2006 et 2010, *S. aureus* a été isolé chez 655 patients « ambulatoires » : 52 d'entre eux, soit près de 8%, hébergeaient un SARM.

La détection de GISA (*S. aureus* Glycopeptide Intermediaire) n'est pas systématique, mais nous pratiquons un contrôle de la CMI par E-test dans les cas de sensibilité diminuée à la teicoplanine sur l'antibiogramme en milieu liquide. Aucune résistance de ce type n'a encore été authentifiée en Nouvelle -Calédonie.

Proportion SARM/SA			
	SARM	SA	%
2006	149	1119	13,3%
2007	139	1230	11,3%
2008	92	1267	7,3%
2009	129	1244	10,4%
2010	150	1195	12,6%
[2006-2010]	659	6055	10,9%

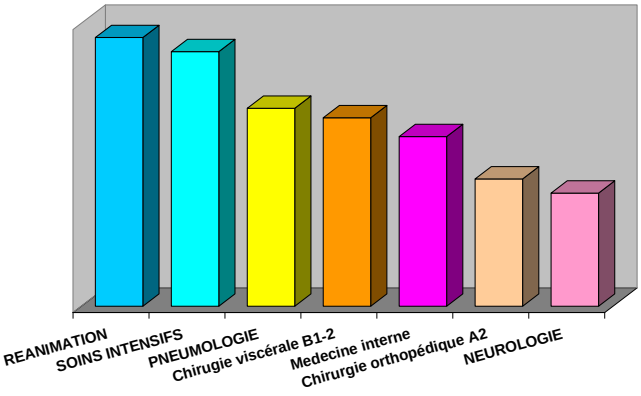
[3] Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

4.2.2. ENTEROBACTERIES EXPRIMANT UNE ß-LACTAMASE DE SPECTRE ETENDU (EBLSE)

Les EBLSE sont retrouvées de façon régulière chaque année. Les variations spatiales et temporelles ne désignent pas de période ou de service particulier, même si les services ciblés « à risque » par le CLIN se révèlent être les plus grands pourvoyeurs. Parmi les 28 141 patients infectés (dépistage inclus), des hôpitaux de Nouméa entre 2005 et 2010, 362 hébergeaient une EBLSE.

En 2010, avec 55 EBLSE retrouvées (dont 10 en soins critiques) au sein des seuls isolats cliniques dans les centres hospitaliers généraux de Nouméa, on mesure un taux d'incidence de 0,89 pour 1000 journées d'hospitalisation en soins critiques, et de 0,38 pour 1000 journées d'hospitalisation en court séjour en 2010.

Les 7 services ayant le plus d'EBLSE



Pour mémoire, en 2007, ce taux d'incidence était de 1,01 pour 1000 journées d'hospitalisation en soins critiques, et de 0,39 pour 1000 journées d'hospitalisation en court séjour. La même année, le réseau BMR-Raisin[4] estimait que ce taux d'incidence était en France de 0,22 pour 1 000 JH, variant de 0,10 à 0,47 selon l'inter-région. Elle était plus élevée en court séjour (0,31).

Parmi ces entérobactéries, 3 genres représentaient plus de 90% des souches EBLSE (*Klebsiella*, *Enterobacter* et *Escherichia*).

Nombre d'EBLSE selon le type d'échantillon

Echantillons	Total [2005-2010]	Moyenne annuelle [mini-maxi]
Urines [B]	**320**	53[37-69]
Hémoculture	**106**	18[12-26]
Plaie ou suintement	**90**	15[12-22]
Prélèvements respiratoires	**73**	12[4-14]
Collection purulente	**22**	4[3-5]
Dispositif intra-vasculaire	**24**	4[2-6]

Le tableau ci-contre montre selon le type de prélèvement, le nombre moyen annuel d'EBLSE. 45% de ces bactéries ont été isolées des urines.

4.2.3. CEPHALOSPORINASE DE HAUT NIVEAU (CASEHN)

Entre 2005 et 2010, nous avons dénombré, au sein d'entérobactéries provenant des seuls isolats diagnostiques, 570 patients hébergeant un germe ayant acquis cette résistance chromosomique, témoin de la pression de sélection liée à l'utilisation des antibiotiques.

4.2.4. ENTEROCOQUES RESISTANTS AUX GLYCOPEPTIDES (ERG)

La recherche systématique d'ERG dans les prélèvements rectaux de dépistage systématique, mise en place en 2004, a permis en 2007 d'éviter l'implantation d'*E. faecium,* porteur du gène *vanB* identifié chez 8 patients.

Depuis, une souche a été isolée fin 2009 et 2 autres en janvier et avril 2010. La clonalité de ces isolats est en cours d'étude au centre national de référence. Le système d'alerte précoce et l'application immédiate des protocoles d'isolement et de désinfection a permis chaque fois d'éviter une diffusion dans les services concernés.

Les **autres BMR** signalées sont des germes de l'environnement hospitalier fréquemment porteurs de résistances acquises en plus de leur résistance naturelle propre, et pouvant être impliqués dans des épidémies nosocomiales. Ce sont :

- *Acinetobacter baumannii* 1 123 souches (681 patients), dont **234** ont été signalées comme résistantes à l'imipénème et/ou à la ceftazidime ;
- *Pseudomonas aeruginosa* 3 635 souches (1 732 patients), dont **155** présentaient des résistances aux C3G ou aux carbapénèmes ;
- *Stenotrophomonas maltophilia* 278 souches dont **96** classées BMR (80 pour 190 patients);

[4] Réseau d'Alerte, d'Investigation, et de Surveillance des Infections Nosocomiales

4.3. DISCUSSION

Entre 2005 et 2010, la proportion de SARM identifiés en diagnostic de routine parmi les isolats cliniques de *S. aureus* est globalement plus faible qu'en métropole (11,3% vs 25,7% en 2007, p<0,001). Sur la même période, cette proportion de SARM est moindre chez les patients ambulatoires que chez les hospitalisés (7,9% vs 10,9%, p = 0,024), mais elle atteste de la diffusion de ces souches en milieu communautaire, comme dans de nombreux pays.

Nous avons comparé les taux d'incidence des SARM pour 1000 journées d'hospitalisation en soins critiques et en hospitalisations de court séjour dans les hôpitaux de Nouméa pour l'année 2007, qui est la plus récente pour laquelle les données françaises sont disponibles. Les taux relevés en hospitalisation de court séjour ne sont pas significativement supérieurs aux taux d'incidence dans les hôpitaux de France métropolitaine (1,01/1000 vs 0,59/1000, p = 0,65). Par contre, ces taux sont identiques en ce qui concerne les services de soins critiques.

Le taux d'incidence de patients porteurs d'EBLSE en court séjour est semblable à celui relevé dans les mêmes conditions dans les hôpitaux français. En services de soins critiques, ce taux est en 2010 presque deux fois et demi plus élevé qu'en court séjour, justifiant le dépistage systématique à l'admission de ces agents infectieux « à haut potentiel de transmission croisée ».

Il implique également d'augmenter la maîtrise du risque infectieux, notamment en assurant une diffusion efficace de l'alerte auprès du personnel de soin pour une mise en œuvre précoce des « précautions complémentaires ».

Le nombre important de CaseHN, supérieur à celui des EBLSE, souligne l'importance de réduire la pression antibiotique par une politique de prescription rigoureuse. Il doit également faire envisager l'application des précautions complémentaires lorsqu'un patient héberge une telle bactérie sur un site anatomique ouvert et/ou dans un service hébergeant des patients « fragilisés », afin d'en prévenir la diffusion nosocomiale.

Cette politique, mise en œuvre au sein des CHT de Nouméa par le CLIN, avec le concours du laboratoire de bactériologie, des praticiens référents en infectiologie et de la pharmacie des hôpitaux en ce qui concerne la prescription d'antibiotiques, est progressivement révisée et adaptée. Au cours de la période étudiée, aucun phénomène épidémique n'a justifié la fermeture complète d'un service, même si quelques flambées ont justifié la fermeture de boxes de réanimation ou de soins intensifs le temps d'une désinfection approfondie.

Enfin, comme le préconise la conférence de consensus de la SFHH, une déclaration systématique des isolements des pathogènes opportunistes de l'environnement hospitalier présentant une multi-résistance permettrait de dépister précocement l'apparition d'épidémies et d'initier rapidement les mesures pour les endiguer.

En dépit des dysfonctionnements importants liés à des problèmes d'effectifs ces dernières années, le CLIN a acté la mutualisation de ses compétences au niveau de l'ensemble des structures d'hospitalisation de la Nouvelle-Calédonie (hôpital psychiatrique, hôpitaux de la Province Nord, structures relais pour hémodialysés, cliniques privées), et on peut ainsi espérer à terme une surveillance renforcée sur l'ensemble du territoire.

SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES GONOCOQUES EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable
- Cyrille GOARANT, bactériologiste

Collaborateurs IPNC
- Régis GOURSAUD, médecin biologiste
- Carine MAURON, technicienne de recherche jusqu'au 30 avril 2010
- Lilian BRUYERE-OSTELLS, technicien de recherche depuis avril 2010

Collaborations externes
- Robert NICHOLAS (University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, USA)
- John TAPSALL et Tiffany SCHULTZ, (WHO Collaborating Centre for STD, Department of Microbiology, The Prince of Wales Hospital, Randwick, NSW, Australie)
- Réseau RESGO avec les hôpitaux du Nord et les laboratoires privés

Cofinancement avec IPNC
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)

1. CONTEXTE ET JUSTIFICATIONS

Parmi les infections sexuellement transmissibles (IST), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) est un des agents infectieux les plus fréquemment impliqués. Historiquement, les souches de *Neisseria gonorrhoeae* isolées par le Laboratoire d'Analyses Médicales (LABM) de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) sont sensibles aux antibiotiques.

A partir de 2008, la création (par l'IPNC avec le soutien financier du gouvernement de la Nouvelle-Calédonie) d'un réseau de surveillance des gonocoques (RESGO) a permis de documenter les souches isolées en dehors de l'IPNC, par les laboratoires privés et les établissements hospitaliers du Nord. Ceci a permis notamment une réaction rapide et probablement efficace en plusieurs occasions lors de l'isolement de souches résistantes à la pénicilline et /ou aux quinolones.

En l'absence de circulation de souches produisant des béta-lactamases, le Laboratoire de Recherche en Bactériologie de l'IPNC a développé des techniques de génotypage des déterminants chromosomiques de la résistance à la pénicilline chez les gonocoques, pour mieux caractériser ce phénomène et suivre son évolution. Ces techniques moléculaires présentent en outre l'avantage de pouvoir éventuellement être mises en œuvre sur des souches transmises par des laboratoires extérieurs distants, et qui nous parviendraient non viables. L'étude de la présence et de la prévalence de mutations de certains gènes chromosomiques, ainsi que de leur évolution temporelle, a permis de maintenir la recommandation d'un traitement des infections gonococciques par la pénicilline, et d'en informer la communauté médicale de NC (article dans le Bulletin Médical Calédonien et Polynésien en 2007).

Les quinolones étant recommandées dans le traitement des gonocoques résistant à la pénicilline, nous avons également développé une technique permettant de rechercher les déterminants de la résistance sur les 2 gènes impliqués (*gyrA* et *parC*).

2. METHODOLOGIE DE L'ETUDE

- Isolement au LABM de l'IPNC ou ;
- collecte de souches documentées auprès de laboratoires extérieurs (laboratoires privés, provinciaux, hospitaliers du Nord…), même non viables ;
- Antibiogramme classique en diffusion (sur les souches viables) au LABM de l'IPNC ;
- Complément phénotypique : détermination précise des CMI pour la pénicilline G et la ciprofloxacine par la technique des E-Tests ;
- Détermination moléculaire des génotypes des déterminants de la résistance à la pénicilline (*penA*, *penB*, *ponA*, *mtrR*) et aux quinolones (*gyrA*, *parC*) par génotypage sur une plateforme de PCR en temps réel ;
- Analyse des résultats en regard de l'évolution temporelle des phénotypes et des génotypes recueillis depuis 2006 à l'IPNC et de l'origine des souches.

NB : Suite à l'observation au cours de 3 années consécutives d'une évolution limitée de la prévalence de ces déterminants et d'une stabilité des phénotypes, il a été décidé de limiter cette approche aux souches intermédiaires ou résistantes à la pénicilline et aux souches résistantes aux fluoroquinolones.

3. BILAN DE L'ANNEE 2010

En 2010, 197 souches de gonocoques ont été collectées et caractérisées à l'IPNC, incluant 39 souches isolées par les laboratoires privées et 9 provenant des centres hospitaliers du Nord, dans le cadre du réseau RESGO. Ces souches proviennent de 92 femmes et 105 hommes, âgés de 13 à 65 ans. Il est à noter, en dehors de souches d'origine génitale, deux souches provenant d'arthrites isolées en fin d'année.

3.1. PHENOTYPES OBSERVES AU COURS DE L'ANNEE 2010

Il est notable qu'une seule souche présentant un profil de résistance différent des souches calédoniennes a été isolée au cours de cette année 2009, souche de sensibilité intermédiaire à la pénicilline et résistante aux quinolones. Sa détection rapide a permis de déterminer qu'elle avait été importée d'Australie et, très vraisemblablement, d'en éviter la diffusion en Nouvelle-Calédonie.

La répartition des phénotypes de ces souches concernant leur sensibilité à la pénicilline est décrite dans le graphique suivant (figure 1).

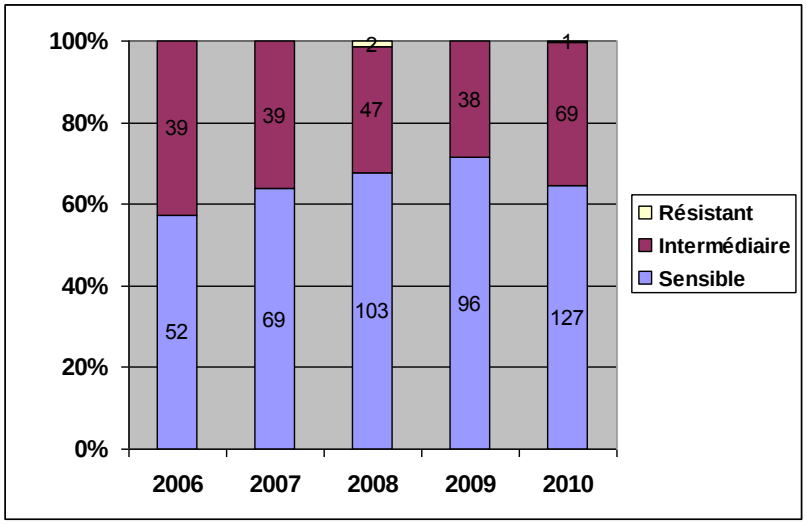


Figure 1 : Phénotypes de sensibilité à la pénicilline G des *N. gonorrhoeae* isolés à l'IPNC depuis 2006.
Malgré une légère diminution de la part des souches sensibles, on constate à nouveau une stabilité de la part des souches de sensibilité intermédiaire à la pénicilline.

Le Centre Médical Polyvalent (CMP) ESPAS-CMP est le prescripteur conduisant à l'isolement du plus grand nombre de souches de gonocoques à l'IPNC. De plus, les praticiens de ce centre utilisent en première intention un traitement à la pénicilline, et ces médecins sont donc tout particulièrement vigilants à la sensibilité des souches de gonocoques à cet antibiotique. La figure 2 ci-dessous montre la proportion de souches à phénotype sensible ou intermédiaire, selon que l'isolement provient d'une prescription du CMP ou non.

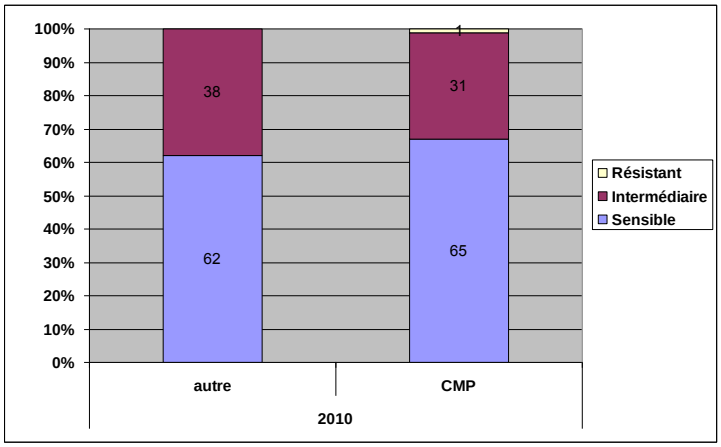


Figure 2 : Phénotypes de sensibilité à la pénicilline G des *N. gonorrhoeae* isolés à l'IPNC en 2010 suite à des prescriptions de l'ESPAS-CMP ou des autres prescripteurs.

On constate que la proportion de souches à sensibilité intermédiaire n'est pas augmentée dans les souches issues des patients du CMP (32 % contre 38% chez les autres prescripteurs, écart non significatif).

3.2. GENOTYPAGE DES DETERMINANTS CHROMOSOMIQUES DE LA RESISTANCE

Le génotypage a été réalisé sur les 69 souches de sensibilité intermédiaire. La souche résistante d'origine asiatique qui présentait une résistance aux (fluoro)quinolones était porteuse d'une double mutation sur le gène *gyrA,* ainsi que d'une double mutation sur le gène *parC* et exprimait une béta-lactamase (génotype fréquemment observé chez les souches de cette origine). La totalité des autres souches était sensible aux quinolones.

Sur ces 69 souches non productrices de pénicillinase mais de sensibilité intermédiaire, les diminutions de sensibilité à la pénicilline doivent être liées à des mutations chromosomiques, décrites pour affecter 4 gènes : les gènes *penA* et *ponA* des protéines liant la pénicilline (PLP 1 et 2), le gène *penB* de la porine, spécialement son allèle *porB$_{1b}$* et le gène *mtrR* du répresseur contrôlant l'expression de la pompe à efflux MtrCDE. Ces déterminants ont été génotypés.
Les mutations des gènes *penA* et *ponA* sont assez fréquentes en Nouvelle-Calédonie, comme le montre la figure 3 ci-dessous.

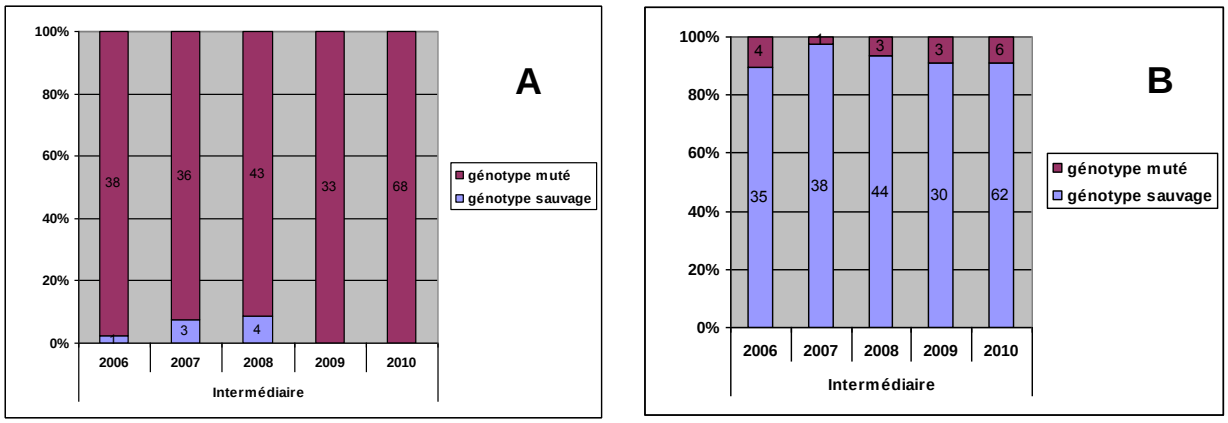


Figure 3 : Fréquence des mutations observées sur les gènes *penA* (A) et *ponA* (B) dans les gonocoques à sensibilité intermédiaire à la pénicilline isolés depuis 2006 en Nouvelle-Calédonie

On n'observe pas d'augmentation significative de la fréquence de ces mutations dans les isolats calédoniens. Il est intéressant de noter que la mutation du gène *penA* est retrouvée dans tous les isolats de sensibilité intermédiaire.

La principale mutation responsable d'une augmentation de l'efflux par le système MtrCDE chez les gonocoques est la délétion d'un A dans la région promotrice du gène du répresseur MtrR. Cette mutation, qui confère une forte diminution de sensibilité à la pénicilline lorsque la porine est altérée, ne circule pas en Nouvelle-Calédonie. Cette mutation bien décrite et circulant largement au niveau mondial n'a pas été retrouvée dans les isolats de 2010.
Néanmoins, une autre altération de la séquence de ce promoteur, en cours de description, consiste en l'insertion d'un T dans cette même région promotrice de *mtrR*. Cette mutation, assez fréquente en Nouvelle-Calédonie, ne confère toutefois pas une baisse aussi importante de sensibilité. Sa prévalence est restée stable (et même en baisse non significative), dans les isolats intermédiaires, passant de 42% en 2009 à 35% en 2010.

Enfin, le génotypage de la porine permet à la fois de déterminer la prévalence de chacun des allèles *porB$_{1a}$* et *porB$_{1b}$* et de génotyper *porB$_{1b}$*, allèle dont les mutations ont été montrées contribuer de façon importante à une baisse de sensibilité à la pénicilline.

L'allèle *porB$_{1a}$*, connu quant à lui pour favoriser les infections profondes, est retrouvé chez 12,5% des gonocoques à sensibilité intermédiaire isolés en 2010 en Nouvelle-Calédonie. Cette fréquence est comparable à celle d'autres pays développés, et plus faible que la fréquence retrouvée dans des pays moins développés (par exemple 40% à Madagascar ou au Cambodge).

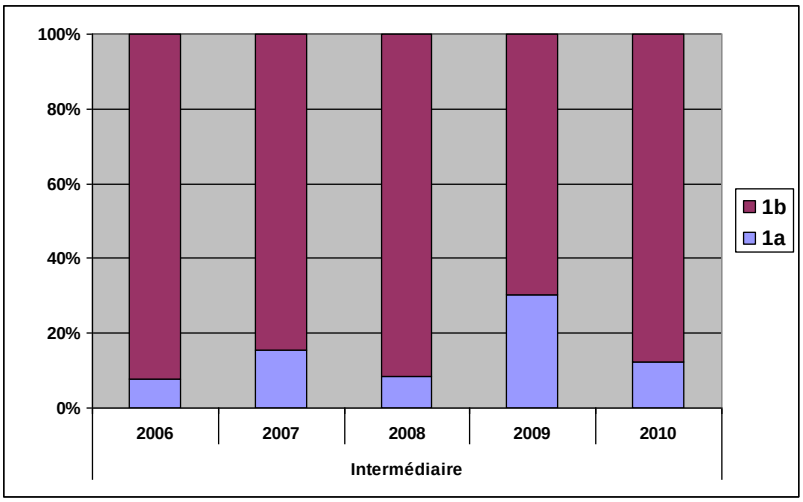


Figure 4 : Fréquences respectives des allèles *porB*$_{1a}$ et *porB*$_{1b}$ de la porine dans les gonocoques à sensibilité intermédiaire à la pénicilline isolés depuis 2006 en Nouvelle-Calédonie

Cette fréquence est relativement stable depuis plusieurs années.
L'évolution de la fréquence des différents génotypes de la porine *porB*$_{1b}$ est présentée dans la figure 5 suivante.

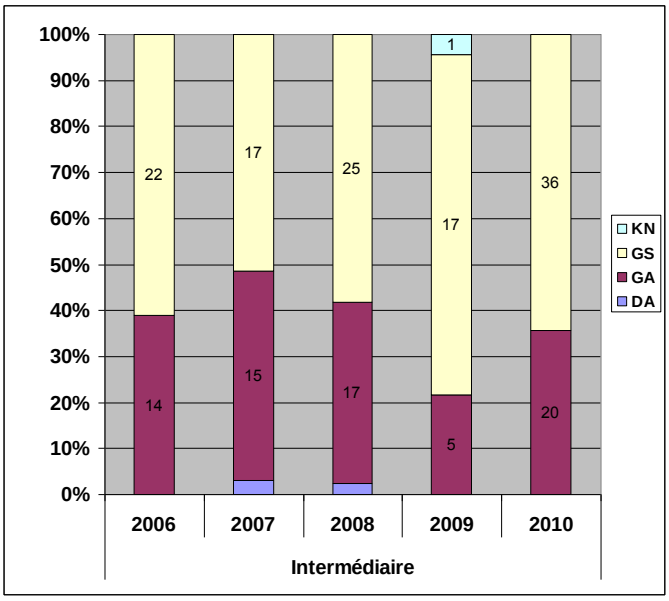


Figure 5 : Fréquences des génotypes de l'allèle *porB*$_{1b}$ de la porine dans les gonocoques à sensibilité intermédiaire à la pénicilline isolés en 2009 en Nouvelle-Calédonie.

Pour les allèles *porB*$_{1b}$, les génotypes circulant en Nouvelle-Calédonie sont retrouvés avec une fréquence proche de celle des dernières années. Le génotype sauvage (G101/A102) est retrouvé chez 36% des souches portant l'allèle *porB*$_{1b}$. La fréquence de la simple mutation GS (pour A102S), mutation décrite en Nouvelle-Calédonie et conférant une baisse modérée de la sensibilité à la pénicilline ne semble toutefois plus réellement progresser, comme cela était suspecté depuis 2006.

4. CONCLUSION

Les souches de gonocoques circulant en Nouvelle-Calédonie demeurent le plus souvent sensibles aux antibiotiques, ce qui constitue, au regard de la situation mondiale ou des pays voisins, un statut sanitaire privilégié. La surveillance phénotypique et moléculaire de la sensibilité de ce germe ainsi qu'une bonne réactivité des acteurs impliqués ont permis, jusqu'à maintenant, de conserver ce statut. Depuis 2008 et la mise en place du réseau RESGO permettant la collecte et la caractérisation de souches isolées par les autres laboratoires, ce suivi de la résistance de ce germe atteint un très bon niveau de couverture. Au cours des dernières années, plusieurs souches résistantes, résultant d'importations, ont été mises en évidence rapidement et la réactivité des différents interlocuteurs a visiblement permis d'efficacement empêcher leur diffusion en Nouvelle-Calédonie.
Les résultats du suivi de l'année 2010 n'impliquent donc pas de modifier la recommandation d'un traitement de première intention par la pénicilline chez tous les patients qui n'y sont pas allergiques.

SURVEILLANCE DU PNEUMOCOQUE EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable
- Sylvain MERMOND, médecin biologiste

Collaborateurs IPNC
- Eric D'ORTENZIO, médecin épidémiologiste, Unité d'Epidémiologie, depuis septembre 2010
- Régis GOURSAUD, médecin biologiste, LABM-Bactériologie
- Myrielle DUPONT, chercheur microbiologiste
- Rémi DUFOURQ, VCAT, LEM
- Olivia O'CONNOR, technicienne, LEM
- Camille LETHEZER, surveillante
- Elodie CHALUS, interne bactério depuis novembre 2010
- Nathalie RIVOIRE, interne bactério de novembre 2009 à fin octobre 2010
- Rachel DAMBREVILLE, secrétaire, Unité d'Epidémiologie

Collaborateurs externes
- Sylvie TARDIEU, médecin biologiste, laboratoire des hôpitaux de la Province Nord
- Virginie FALCOT, biologiste, laboratoires Calédobio
- Jérôme COLLIGNON, biologiste, laboratoires Alma-Magnin
- Marie-Cécile PLOY, coordinatrice des ORP, CHU de Limoges
- Emmanuelle VARON, Centre National de Référence des Pneumocoques, Paris
- Shahin OFTADEH, Pneumococcal Reference Lab, Centre for Infectious Diseases & Microbiology, Westmead Hospital, Westmead, Australia.

Cofinancement
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)

1. CONTEXTE

Streptococcus pneumoniae est une bactérie commensale des voies aériennes supérieures de l'homme. La colonisation du rhinopharynx par le pneumocoque varie notamment en fonction de l'âge et de l'environnement. Elle apparaît très précocement au cours des premiers mois de la vie.

Le pneumocoque est impliqué dans un grand nombre d'infections communautaires de l'enfant et de l'adulte (otites, sinusites, pneumopathies, méningites, bactériémies, …). Au niveau mondial, ce germe constitue un problème majeur de santé publique, notamment en raison de l'importante morbi-mortalité associée à ces infections. Les infections pneumococciques touchent principalement les enfants en bas âge ainsi que les personnes âgées.

Face à la gravité potentielle des infections pneumococciques, en particulier en pédiatrie, et à l'apparition de souches de plus en plus résistantes aux antibiotiques, l'importance de la prévention par la vaccination apparaît primordiale dans les populations à risque.

En Nouvelle-Calédonie, une étude menée entre 1999 et 2001 sur la répartition des sérotypes des souches de pneumocoque invasives chez les enfants de moins de cinq ans a mis en évidence une bonne concordance avec les sérotypes inclus dans le vaccin pneumococcique heptavalent conjugué (70%) [1]. Dans une autre étude réalisée en 2002 chez les enfants sains de deux à vingt-quatre mois [2], la concordance vaccinale était en revanche plus faible avec les souches de portage rhinopharyngé (46%). Il a également été établi lors de cette étude que 52% des enfants étaient porteurs de pneumocoque, avec un pourcentage de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline de 21%.

Sur la base de ces études, les autorités sanitaires ont autorisé l'utilisation du vaccin heptavalent conjugué pour la prévention des infections invasives à pneumocoque chez les enfants de moins de deux ans en Nouvelle-Calédonie. Le Prevenar® est utilisé sur le territoire calédonien depuis 2004 et fait partie des nouvelles recommandations du calendrier vaccinal depuis 2006.

La généralisation du vaccin conjugué heptavalent en Nouvelle-Calédonie a ainsi rendu nécessaire la surveillance microbiologique du pneumocoque, en particulier leur distribution sérotypique.

L'IPNC a mené une étude sur le portage rhinopharyngé asymptomatique du pneumocoque en 2008-2009, afin de suivre l'impact du vaccin heptavalent chez les enfants de 2 à 24 mois. Nous avons mis en évidence une diminution significative du taux de portage depuis l'introduction du Prevenar®, touchant principalement les sérotypes vaccinaux. En parallèle, il a été observé une augmentation sensible du portage des sérotypes non vaccinaux. Par ailleurs, le taux de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) a significativement augmenté pendant la même période. Cette augmentation du portage de PSDP est inattendue, dans la mesure où le Prevenar® inclut les sérotypes les plus souvent associés à une sensibilité diminuée à la pénicilline. Mais la diminution du portage de la plupart des sérotypes vaccinaux est contrebalancée par l'augmentation parallèle de sérotypes non vaccinaux devenus plus résistants, tels que les sérotypes 19A et 15B. De plus, le sérotype vaccinal 19F, dont le portage a légèrement augmenté malgré l'introduction du Prevenar®, est également apparu significativement plus résistant. Cette diminution du bénéfice global du Prevenar®, liée à

l'augmentation du portage de sérotypes non vaccinaux devenus plus résistants à la pénicilline, a été observée dans plusieurs études, incriminant notamment le sérotype 19A.

L'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) assure la mission d'Observatoire Régional du Pneumocoque pour la Nouvelle-Calédonie (ORP-NC) depuis janvier 2007 (*http://www.sante-limousin.fr/public/observatoires/observatoire-des-pneumocoques/presentation*), en collaboration avec les ORP de métropole, le Centre National de Référence des Pneumocoques (CNRP), l'InVS et les laboratoires collaborateurs en Nouvelle-Calédonie (laboratoires des hôpitaux du Nord et laboratoires privés).
Dans ce cadre, l'IPNC transmet au CNRP deux fois par an les souches de pneumocoques répondant à des critères de sélection préétablis, avec l'ensemble des données épidémiologiques correspondantes. Les données de la Nouvelle-Calédonie sont ensuite analysées et intégrées au bilan annuel du CNRP (*http://www.invs.sante.fr/surveillance/cnr/rapports_activite.htm*).
A compter de 2011, les données de l'ORP-NC seront traitées conjointement avec les données des 23 ORP de métropole, et non plus à part comme c'était le cas jusqu'à présent.

2. OBJECTIFS

L'objectif est de collecter des données sur la résistance aux antibiotiques des pneumocoques en Nouvelle-Calédonie et d'assurer un suivi des sérotypes circulants, notamment pour les souches invasives (souches isolées de LCR ou d'hémocultures).

3. MATERIEL ET METHODES

Le protocole suivi par l'ORP-NC est calqué sur celui des ORP métropolitains et se base sur le recueil continu de données cliniques et bactériologiques pertinentes. Sur le plan bactériologique, l'ORP-NC recense toutes les souches invasives isolées d'hémocultures et de LCR, et un panel représentatif de souches non invasives : 24 souches isolées de prélèvements respiratoires (correspondant aux 2 premières souches isolées chaque mois) et toutes les souches isolées de pus d'otites moyennes aiguës et de liquides pleuraux.
Les CMI de la pénicilline (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) sont déterminées par la méthode de référence selon les recommandations du CA-SFM.
La sensibilité aux autres antibiotiques (érythromycine, norfloxacine, trimethoprime-sulfamethoxazole, tétracycline, pristinamycine) est étudiée par diffusion en milieu gélosé.
Le sérogroupe est déterminé par agglutination avec des particules de latex sensibilisées avec des antisérums spécifiques des sérogroupes 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 14, 15, 18, 19 et 23 (Statens Serum Institute).

4. RESULTATS

En 2010, l'ORP-NC a recueilli 93 souches de pneumocoques dont 62 souches invasives (54 souches isolées d'hémocultures et 8 de LCR).
Le tableau 1 présente l'origine géographique des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées en 2010 en fonction du prélèvement.

Tableau 1. Répartition des souches par centre et par type de prélèvement en 2010.

	TOTAL		IPNC		CHT du Nord		Labo privés	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Hémoculture	**54**	**58**	44	57,9	5	62,5	5	55,6
Liquide céphalo-rachidien	**8**	**8,6**	6	7,9	2	25	-	-
Souches respiratoires	**24**	**25,8**	24	31,6	-	-	-	-
Otite moyenne aigue	**6**	**6,5**	2	2,6	-	-	4	44,4
Liquide pleural	**1**	**1,1**	-	-	1	12,5	-	-
NOMBRE TOTAL DE SOUCHES	**93**	**100**	76	100	8	100	9	100

4.1. RESISTANCE AUX BETA-LACTAMINES

La proportion des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (définis par un CMI de la pénicilline G > 0,064 mg/L) est évaluée à 25% en 2010 (16,9% en 2009). Il n'a pas été isolé de souche résistante à la pénicilline (CMI > 2 mg/L).
Les souches non sensibles à l'amoxicilline (CMI > 0,5 mg/L) représentent 12,5% des souches analysées en 2010 (7,4% en 2009), sans aucune souche résistante (CMI > 2 mg/L).
Il faudra voir si cette augmentation relative du nombre de souches de sensibilité diminuée aux béta-lactamines se confirme en 2011.

4.2. RESISTANCE AUX MACROLIDES ET QUINOLONES

Aucune souche de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones n'a été dépistée en 2010 avec le test à la norfloxacine.
La résistance aux macrolides (I+R pour l'érythromycine) est en augmentation (p=0.07). Elle concerne 28,7% des souches de pneumocoques isolées en 2010 contre 17,5% en 2009.

Tableau 2. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* étudiées en 2010 par l'ORP-NC.

Répartition de la sensibilité des souches aux différents antibiotiques	Sensible		Intermédiaire		Résistant		I+R 2010		I+R 2009		p-value
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Pénicilline G (n = 88)	66	75%	22	25%	0	0%	22 (88)	25%	23 (136)	16,90%	0,19
Amoxicilline (n = 88)	77	87,50%	11	12,50%	0	0%	11 (88)	12,50%	10 (136)	7,40%	0,29
Céfotaxime (n = 88)	87	98,90%	1	1,10%	0	0%	1 (88)	1,10%	6 (136)	4,40%	0,16
Erythromycine (n = 87)	62	71,30%	5	5,70%	20	23%	25 (87)	28,70%	24 (137)	17,50%	0,07
Cotrimoxazole (n = 89)	2	2,20%	16	18%	71	79,80%	87 (89)	97,80%	127 (135)	94%	0,17
Rifampicine (n = 89)	88	98,90%	1	1,10%	0	0%	1 (89)	1,10%	1 (136)	0,70%	0,67
Pristinamycine (n = 88)	88	100%	0	0%	0	0%	0 (88)	0%	0 (136)	0%	-
Chloramphénicol (n = 88)	85	96,60%	-	-	3	3,40%	3 (88)	3,40%	0 (75)	0%	0,15
Tétracycline (n = 90)	69	76,70%	3	3,30%	18	20%	21 (90)	23,30%	25 (137)	18,30%	0,44
Fosfomycine (n = 89)	88	98,90%	-	-	1	1,10%	1 (89)	1,10%	0 (75)	0%	0,54
Test à la Norfloxacine 5 µg (n = 90)	90	100%	-	-	0	0%	0 (90)	0%	1 (137)	0,80%	0,6

4.3. MULTI-RESISTANCE

En 2010, la multi-résistance définie comme la résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques concerne environ 22% des souches étudiées, alors qu'elle concernait 16% des souches en 2009.

4.4. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET SEROGROUPES

Depuis 2007, le sérogroupe 19 est celui le plus souvent associé au phénotype de sensibilité diminuée à la pénicilline. En 2010, sur les 22 PSDP, 13 appartiennent au sérogroupe 19.

4.5. EVOLUTION DE L'INCIDENCE DES INFECTIONS INVASIVES A PNEUMOCOQUES EN 2010

En 2010, l'ORP-NC a recensé 65 infections invasives à pneumocoque : 11 LCR positifs dont 3 seulement en antigènes solubles et 54 hémocultures positives. Ce chiffre correspond à un recul de 40% par rapport à l'année précédente.

Chez l'enfant (<16 ans), nous avons enregistré 13 infections invasives à pneumocoque (10 septicémies et 3 méningites dont 2 objectivées sur la seule positivité des antigènes solubles). Parmi les souches invasives isolées en culture (n = 11), les sérogroupe 19 (n = 3) et 15 (n = 3) sont majoritaires ; vient ensuite le sérogroupe 7 (n = 2), puis les sérogroupes 1, 8 et 23 (1 seule souche pour chacun de ces sérogroupes). Seul le sérogroupe 19 était potentiellement couvert par le vaccin conjugué heptavalent (PCV7), mis en place depuis 2006 (sérotype 19F). Une enquête serait nécessaire pour connaître le statut vaccinal de ces enfants. Des analyses complémentaires sont également indispensables pour déterminer le sérotype exact des souches invasives isolées en 2010 ; ceci permettra d'étudier la concordance des sérotypes isolés en 2010, par rapport au nouveau vaccin à 13 valences récemment mis en place en Nouvelle-Calédonie (PCV13).

Il est intéressant de noter que le sérogroupe 12 n'a pas été retrouvé en 2010, alors qu'il a été encore identifié en 2009 (n = 4) et qu'il n'était pas inclus dans PCV7.

4.6. PERSPECTIVES

L'équipe en charge de l'ORP-NC a été renforcée récemment ; elle se compose dorénavant d'un médecin biologiste, d'un médecin épidémiologiste, d'une technicienne référente et d'une secrétaire.

Une base de données vient d'être créée au sein de l'unité d'épidémiologie. Elle facilitera à terme l'analyse rétrospective des données collectées depuis la création de l'ORP-NC en 2007.

Une étude portant sur les souches de pneumocoques (invasives et non invasives) isolées entre 2009-2010 à l'IPNC a débutée fin 2010 ; les objectifs sont de décrire l'épidémiologie des souches responsables d'infections en Nouvelle-Calédonie (antibiorésistance, sérotypes), et d'évaluer l'impact de la vaccination par le PCV7. Ceci permettra également de déterminer l'impact potentiel du nouveau vaccin à 13 valences (PCV13).Il est également prévu au décours de cette étude de mettre en place un nouvel outil moléculaire (PCR multiplex) pour le sérotypage du pneumocoque, afin d'accélérer le rendu des résultats aux cliniciens ainsi que l'analyse épidémiologique des données

SURVEILLANCE DES MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE

Responsable
- Régis GOURSAUD, médecin biologiste, laboratoire bactériologie

Collaborateurs externes
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- Agence Sanitaire Sociale

Cofinancement avec IPNC
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)
- Agence de Santé de Wallis & Futuna

TUBERCULOSE & MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE

1. CONTEXTE & JUSTIFICATIONS

Les normes internationales applicables au traitement de la tuberculose, ont été rappelées en 2005 par l'OMS à La Haye, lors du lancement de la stratégie « Halte à la Tuberculose ».
Parmi ces recommandations, après avoir notifié qu'«*un diagnostic rapide et exact et un traitement efficace font partie intégrante de soins de qualité* », la norme N° 2 stipule que « *Tous les malades (adultes, adolescents ou enfants capables de produire des expectorations) présumés atteints de tuberculose pulmonaire devront donner au minimum 2, de préférence 3 échantillons pour un examen microscopique des expectorations.* »

L'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) est le laboratoire de référence pour les mycobactéries pour la Nouvelle-Calédonie et Wallis et Futuna. Il est le seul à identifier les souches isolées en culture et déterminer leur sensibilité aux antituberculeux. La manipulation du BK est considérée comme une activité dangereuse qui nécessite la mise en place de procédures de sécurité drastiques. Ainsi, suite aux recommandations françaises de 2007, l'IPNC a décidé dès 2009 de transférer cette activité dans le futur laboratoire de sécurité « P2+ », en attendant le « P3 » prévu sur le site du futur Médipôle. Le transfert de l'activité dans ce laboratoire de sécurité et un stage à l'Institut Pasteur de Madagascar (laboratoire P3) pour une technicienne sont prévus pour 2011.

Le diagnostic bactériologique de la tuberculose, que ce soit par l'examen direct sur lame après coloration ou par la culture puis identification, est d'autant plus fiable que le technicien est entraîné quotidiennement. Compte tenu du petit nombre d'habitants et du faible taux d'incidence de la maladie en Nouvelle-Calédonie, la centralisation des identifications et des tests de résistance dans un seul laboratoire spécialisé se justifie. Cette centralisation permet également de s'assurer de l'exhaustivité du traitement de tous les patients tuberculeux confirmés. L'IPNC informe en temps réel les prescripteurs et la DASS des nouveaux cas dépistés.

En plus des autocontrôles des colorations et des milieux de cultures, l'IPNC est abonné à un contrôle de qualité externe, assuré par le Centre Collaborateur OMS régional en Australie (Queensland Mycobacterium Reference Laboratory, Brisbane).

En 2010, 3 techniciens ont examiné 10 lames. Excellente corrélation en interne et en externe, 9 réponses sur 10 correspondaient exactement au résultat attendu. La seule discordance mineure portait sur une lame attendue négative sur laquelle un seul BAAR avait été vu. Une remarque sur l'intensité de la coloration nous a conduits à modifier la préparation de nos réactifs, d'autant que cette action était dictée par les nouvelles mesures de sécurité que nous mettons en place.

2. METHODOLOGIE

2.1. PROVENANCE & NATURE DES ECHANTILLONS

- Nous recevons en grande majorité des échantillons biologiques d'origine respiratoire (expectorations, aspirations, tubages gastriques, LBA et brossages), des liquides (pleuraux, articulaires, péritonéaux, LCR), des urines et des ponctions ou biopsies.
- La majorité de ces échantillons proviennent des services hospitaliers, toutefois 650 échantillons nous ont été transmis par des laboratoires privés, qui ont par ailleurs demandé 5 identifications de souche, ce qui témoigne d'une activité résiduelle de prise en charge des échantillons hors labo de référence (laboratoire Alma).
- Seuls 107 patients (204 échantillons) ont déposé directement leurs prélèvements à titre externe.

2.2. METHODES DE DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

- Les prélèvements issus d'une localisation ouverte sont décontaminés, et selon la consistance du prélèvement, fluidifiés ou broyés stérilement, puis centrifugés.

- Un étalement sur lame est réalisé et le culot de centrifugation ensemencé sur deux milieux de culture.
- Les lames sont colorées à l'auramine et la totalité de l'étalement est lue au grossissement x 400 en fluorescence.
- Toute lame positive à l'auramine est recolorée par la méthode Zielh-Nielsen et lue au grossissement x1000. La richesse bacillaire est quantifiée selon la nomenclature fixée par l'UICTMR :

DTX	**< 3bacilles pour 200 champs**
P0	**< 10 pour 100 champs (X 1000)**
P1	**10 à 99 pour 100 champs**
P2	**1 à 9 par champ**
P3	**> 10 par champ**

- Les cultures sont observées à J5, J9, puis chaque semaine jusqu'à J28. Un résultat négatif provisoire est alors rendu pour tous les tubes n'ayant pas poussé à ce terme, mais les tubes sont conservés jusqu'à la fin du 3ème mois. Un résultat positif est susceptible d'être rendu jusqu'à cette date.
- Toute primo-culture positive avec une souche non chromogène, apparue au 14ème jour ou ultérieurement, est identifiée à l'aide d'une sonde d'hybridation spécifique du groupe *M. tuberculosis*. En cas de négativité, elle est testée avec la sonde du complexe *M. avium-intracellulare,* qui figure parmi les rares mycobactéries non tuberculeuses parfois impliquées dans une pathologie respiratoire. Ces manipulations permettent une certitude de diagnostic en 24h dès lors qu'il y a un inoculum suffisant..
- Les colonies chromogènes ou à croissance rapide sont examinées soit avec des sondes spécifiques (*M. gordonae, M. kansasii*), soit par les méthodes classiques (tests culturaux et biochimiques).
- Sur toute souche de *M. tuberculosis* isolée chez un nouveau patient est réalisée une étude de la sensibilité par la méthode des proportions vis-à-vis des antituberculeux de première intention (Streptomycine, Ethambutol, Izoniazide et Rifampicine). Une souche résistante à plus d'une molécule est expertisée au CNR qui, le cas échéant, teste les antituberculeux de seconde ligne.
- En cas de résistance clinique ou de persistance de Bacilles Alcoolo-Acido résistants (BAAR) dans les prélèvements respiratoires à l'issue du 2ème mois de traitement, une nouvelle étude de la sensibilité peut être demandée si l'observance du traitement était correcte.

Pour de rares patients le justifiant, une recherche directe de bacilles tuberculeux peut être réalisée par amplification génique (PCR) par un laboratoire de référence en France métropolitaine dans un délai de 10 jours au plus. Cette technique coûteuse n'est toutefois pas une garantie absolue en cas de négativité.

2.3. DECLARATIONS & STATISTIQUES

- En ce qui concerne les examens directs, tout nouveau patient présentant des BAAR à l'examen direct d'un échantillon obtenu lors d'une expectoration ou d'un tubage gastrique donne lieu à l'établissement d'une fiche de liaison adressée à la DASS. Bien entendu, cet examen ne préjuge pas de l'identification de la mycobactérie qui ne pourra être réalisée que sur la souche isolée en culture, mais permet la mise en route de précautions et de l'enquête autour du cas si le contexte clinico-radiologique est en faveur d'une tuberculose.
- Mensuellement, le nombre d'actes réalisés et l'identité des patients positifs à l'examen direct ou en culture sont communiqués à la DASS par voie électronique.

- Pour les cultures, le récapitulatif annuel est mis à jour chaque mois en y incluant le dernier trimestre de l'année N-1, afin de communiquer de façon exhaustive les résultats des antibiogrammes.

3. BILAN DE L'ANNEE 2010

En 2010, un total de 4577 échantillons ont été reçus à l'IPNC, dont 314 pour Wallis et Futuna. Les 4263 échantillons du territoire correspondent à 1576 patients différents provenant de 97 prescripteurs distincts dont les principaux sont listés ci-dessous :

- Pneumologie (1377 échantillons, 2736 analyses)
- Laboratoires privés (662 échantillons, 1448 analyses)
- Médecine Interne (508 échantillons, 1037 analyses)
- Hôpitaux du Nord (257 échantillons, 579 analyses)
- Pédiatrie (185 échantillons, 385 analyses)
- Cardiologie (165 échantillons, 334 analyses)

3.1. RESULTATS DE L'EXAMEN DIRECT AU COURS DE L'ANNEE 2010

86 examens directs révélaient la présence de BAAR dans l'échantillon examiné.

Examens directs 2010						
Négatifs	Positifs ED (+)					
ED(-)	DTX	P0	P1	P2	P3	Tot
3958	7	17	19	22	21	86

Ces examens directs correspondaient à 33 patients différents, parmi lesquels 23 étaient de nouveaux cas de tuberculose, 3 des mycobactéries non tuberculeuses et 4 examens « douteux » n'ont pas été confirmés en culture.

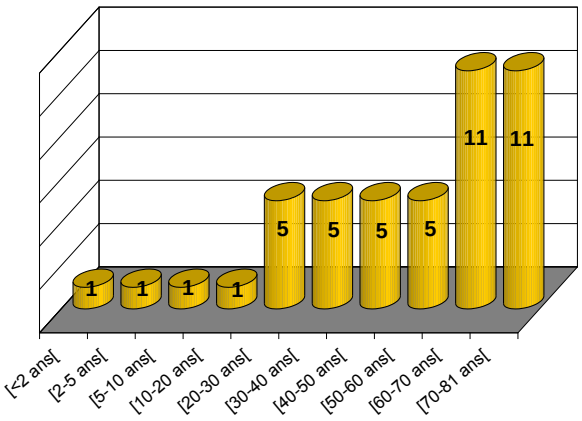
3.2. RESULTATS APRES CULTURE AU COURS DE L'ANNEE 2010

Au total, 46 patients ont été trouvés positifs en BK par la culture (dont 23 dépistés dès l'examen direct), et 38 autres patients étaient porteurs d'une mycobactérie non tuberculeuse principalement isolée à la culture (3 seulement étaient ED+).

CHT		**29**	*63%*
Dont :	Pneumologie	14	
Hors CHT		**17**	*37%*
Dont :	Hopitaux Nord	7	
	Laboratoires	10	*22%*

Tableau 1 : Répartition des 46 BK positifs selon les prescripteurs

2 : Graphique des BK *[C+]* selon la tranche d'âge



Les souches tuberculeuses proviennent de 20 femmes et 26 hommes, âgés de 3 mois à 81 ans (médiane 57 ans), dont les principales caractéristiques (prescripteurs, tranches d'âge) sont détaillées dans le tableau et le graphique insérés dans le texte.

Parmi les 46 souches de bacilles tuberculeux, 40 sont d'origine respiratoire (dont 23 de patients bacillifères) et 6 souches sont d'origine extra pulmonaire.

3.3. MYCOBACTERIES NON TUBERCULEUSES ISOLEES EN 2010

Parmi les 38 souches de bacilles non tuberculeux (anciennement « MAT ») isolées, on dénombre 9 *M. gordonae* et 3 *M. avium-intracellulare*, « potentiellement » pathogènes. Seules 3 MAT ont été retrouvées à l'ED en faible nombre. En règle générale, ces MAT sont rarement retrouvées sur plusieurs prélèvements, ni en quantité notable.

3.4. SENSIBILITE AUX ANTI-TUBERCULEUX MAJEURS AU COURS DE L'ANNEE 2010

Au total, à la date du 20 janvier 2010, les résultats de sensibilité sont disponibles pour 40 souches, et 6 souches sont en cours d'analyses.
Nous avons retrouvé deux nouveaux patients dont les souches portaient la résistance à la streptomycine et à l'izoniazide, une perte de sensibilité à la streptomycine, responsable de plusieurs cas ces dernières années, tous en relation avec un patient index. L'enquête n'a pas encore permis de retrouver l'origine de la contamination de ces patients.
Par ailleurs, nous avons identifié 4 autres patients présentant une résistance de bas niveau à la streptomycine, sans conséquence thérapeutique.

4. PARTICIPATION AU DIAGNOSTIC DE LA LEPRE EN 2010

4.1. METHODES DE DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

Le diagnostic de la lèpre comporte l'examen d'apposition de scarifications exsangues des lobes des deux oreilles et d'un mouchage nasal. Cet examen permet, dans les formes multi bacillaires ou intermédiaires, la mise en évidence de bacilles de Hansen (BAAR) et confirme le diagnostic.

Chaque nouveau cas dépisté est également biopsié et l'échantillon est envoyé au centre de référence à Paris (Hôpital Pitié Salpêtrière) pour inoculation à la souris nude, seule méthode de multiplication du bacille. Une amplification génomique des gènes de résistance est également appliquée à l'échantillon pour dépister une éventuelle résistance.

La surveillance du traitement impose des contrôles annuels et un suivi comparatif de la richesse et de l'aspect des bacilles. On détermine ainsi un indice bactériologique (nombre de bacille par champ), et un indice morphologique (pourcentage de bacilles uniformément colorés) qui reflète la sensibilité au traitement. Les groupements de bacilles (« Globi ») sont également notés et complètent l'appréciation globale des appositions.

4.2. RESULTATS EN 2010

Nous avons reçu à l'IPNC, cette année, 20 échantillons (comportant 3 appositions) correspondant à 19 patients.

Parmi ces patients, six nouveaux cas de lèpre ont été dépistés en 2010.

ACTIVITES REGIONALES : ETUDE DES SOUCHES DE *M. TUBERCULOSIS* ISOLEES A WALLIS ET FUTUNA

1. CONTEXTE

L'hôpital de Sia nous fait parvenir l'ensemble des échantillons recueillis pour la recherche des mycobactéries réalisée dans l'archipel.

La collecte des échantillons est réalisée par le laboratoire de l'hôpital de Wallis qui conditionne les crachats, conservés « au frais » sans conservateur, et les expédie une fois par semaine à l'IPNC, dans une glacière à +4°C. Le respect de la chaîne du froid n'est pas enregistré, mais le transfert s'effectuant en quelques heures, les prélèvements sont encore réfrigérés à réception.
Il faut noter cependant que certains patients sont transférés ou consultent au CHT de Nouméa avant tout prélèvement diagnostique, ce qui fait que nos isolements ne représentent qu'une partie, non quantifiée, des patients contaminés à Wallis et Futuna.

2. RESULTATS

Au total, nous avons reçu 314 échantillons concernant 111 patients.

La majorité de ces prélèvements étaient des expectorations, un seul tubage gastrique a été pratiqué. Nous avons reçu 21 LBA, 4 ponctions pleurales et 3 urines.

A l'examen direct, 4 des échantillons respiratoires étaient positifs, dont un faiblement chez deux patients dont la culture a permis d'identifier un bacille tuberculeux. Ces deux souches, chez des patients bacillifères, étaient sensibles aux antituberculeux de première ligne.

La culture a été positive pour 9 échantillons au total, et nous avons identifié 6 patients porteurs de mycobactéries non tuberculeuses (dont 3 porteurs d'un *M. avium-intracellulare*).

Malgré le faible nombre de prélèvements positifs, les résultats obtenus illustrent bien plusieurs aspects du diagnostic au laboratoire :
- La nécessité de 3 échantillons (un des patients dépistés n'a été positif en culture que sur un seul échantillon)
- La meilleure sensibilité de la culture (six des échantillons présentant une mycobactérie non tuberculeuse avaient un examen direct négatif), mais également la nécessité d'une identification précise, la croissance d'une mycobactérie n'étant pas synonyme de « BK ».

SURVEILLANCE DE LA LEPTOSPIROSE EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE

Responsable
- Ann-Claire GOURINAT, pharmacien biologiste

Collaborateurs IPNC
- Cyrille GOARANT, bactériologiste et vétérinaire
- Eric D'ORTENZIO, médecin épidémiologiste depuis septembre 2010
- Jérôme BECAM, VCAT depuis avril 2010

Collaborateurs externes
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- Institut Pasteur à Paris

Cofinancement
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)
- Agence de Santé de Wallis & Futuna

Introduction

La leptospirose est la zoonose la plus répandue au niveau mondial : on estime que les formes graves de leptospirose représentent annuellement plus de 500 000 cas, principalement en région intertropicale, dans des pays en voie de développement. Pour diverses raisons, la leptospirose est négligée et fait par conséquent l'objet d'une sous-notification dans de nombreuses régions du monde.

En Nouvelle-Calédonie, ainsi que dans les autres collectivités françaises du Pacifique (Wallis et Futuna, Polynésie française), la leptospirose est reconnue depuis de nombreuses années comme une pathologie majeure et un réel problème de santé publique. Son épidémiologie est typiquement endémique avec des flambées épidémiques lors des périodes de forte pluviométrie, comme ce fut le cas au début de l'année 2008, puis à nouveau en 2009. A l'opposé, l'année 2010 se caractérise par une incidence plus réduite de leptospirose, un phénomène à mettre en parallèle avec la sécheresse qui a affecté la Nouvelle-Calédonie au cours de cette année.

Cette maladie est étudiée depuis plus de 20 ans à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC), actuellement au Laboratoire de Recherche en Bactériologie, qui a succédé au Laboratoire des Leptospires. L'IPNC a développé des outils diagnostiques et a acquis au cours des années une expertise reconnue sur cette maladie. Sur le territoire, la totalité des examens nécessaires au diagnostic biologique de la leptospirose sont traités par l'IPNC. Cette situation confère aux résultats du laboratoire un intérêt épidémiologique certain.

En 2010, la situation a été nettement différente des deux années précédentes : en effet, le retour de l'Oscillation Australe « El Niño » à une phase « El Niño » s'est accompagné d'une sécheresse marquée sur le Pacifique Occidental, et aucune flambée à caractère épidémique de leptospirose n'a été observée au cours de cette année 2010. Ces variations climatiques contribuent sans doute à expliquer un nombre de cas diagnostiqués modéré par rapport aux années précédentes. Dans le même temps, le laboratoire a également été beaucoup moins sollicité pour des prélèvements d'origine régionale, transmis par l'Agence de Santé de Wallis & Futuna, essentiellement au cours du premier semestre.

1. CONTEXTE 2010

Contrairement à 2008 et 2009, la Nouvelle-Calédonie a connu en 2010 une situation climatique qui peut avoir contribué à une très nette diminution du nombre d'analyses réalisées pour diagnostiquer la leptospirose à l'IPNC, ainsi qu'à une diminution très notable du nombre de cas confirmés au laboratoire. La situation météorologique marquée par de fortes précipitations sous l'influence du phénomène « la Ninã », qui prévalait au cours des 2 années précédentes a laissé sa place à une phase « El Niño » marquée, associée à un fort déficit hydrique sur l'ensemble de la Nouvelle-Calédonie.

2. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE

2.1. PARAMETRES DIAGNOSTIQUES

En fonction de la date d'apparition des premiers symptômes, deux approches diagnostiques sont mises en œuvre.

Le test le plus ancien et le plus connu des praticiens pour le diagnostic de la leptospirose est le test d'Agglutination microscopique (MAT, d'après Martin et Petit), basé sur l'agglutination de suspensions vivantes de *Leptospira* par le sérum à tester, permettant la détection des anticorps totaux. Il se positive en 8 à 12 jours après le début de la maladie. La réponse est spécifique de sérogroupe et nécessite l'emploi d'une batterie

représentative des souches de *Leptospira* décrites en Nouvelle-Calédonie (actuellement : 11 antigènes sélectionnés). D'un principe simple, le MAT est cependant une technique peu standardisée, délicate à maintenir et qui requiert une expérience certaine de la part des techniciens. Pour garantir la qualité de cette analyse, l'IPNC participe à des programmes internationaux de contrôle de qualité (Royal College of Pathologists of Australasia et International Leptospira Society / National Reference Laboratory de Melbourne).

Chaque fois que possible, il est demandé une paire de prélèvements, précoce et tardif, pour étudier l'évolution des titres agglutinants et, le plus souvent, déterminer le sérogroupe présomptif en cause.

Le laboratoire peut également mettre en évidence l'ADN bactérien par une technique de PCR en temps réel (technologie SYBR-Green I sur LightCycler LC2.0, Roche Diagnostics), sur des prélèvements sanguins précoces (J1 à J6 par rapport à l'apparition des symptômes), sur des liquides céphalo-rachidiens en cas de méningites, ou sur des urines prélevées tardivement (au-delà de la première semaine de maladie), comme schématisé dans la figure n°1 ci-dessous.

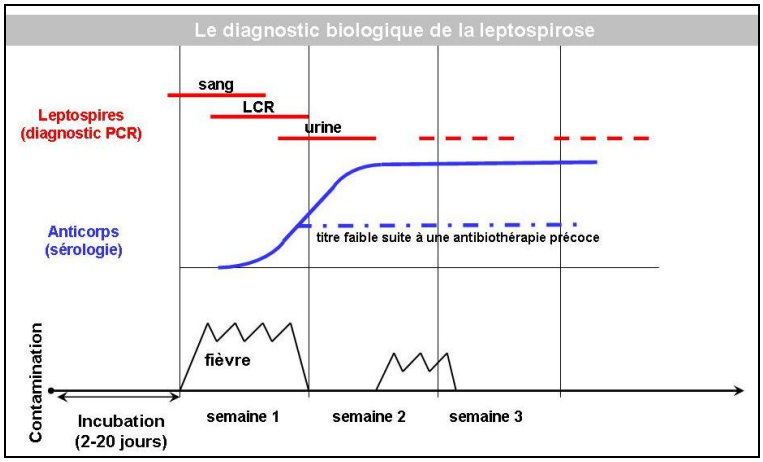


Figure n°1 : Positivité des tests de diagnostic biologique de la leptospirose en fonction du délai d'apparition des signes cliniques.

Les praticiens intègrent maintenant la disponibilité de cette technique de diagnostic précoce, qui contribue ainsi de façon croissante au diagnostic biologique de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie.

2.2. INTERPRETATION

Cas probable	un prélèvement unique ayant un titre MAT supérieur au 1/400ème
Cas confirmé	PCR positive ***Ou*** Séroconversion (de négatif à titre MAT ≥ 1/400ème) ***Ou*** séroascension (titres agglutinants x 4)

3. ACTIVITE POUR L'ANNEE 2010

3.1. RESULTATS GLOBAUX DU LABORATOIRE (NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION)

L'activité de 2010 a été nettement inférieure à la moyenne des 5 dernières années et apparaît de l'ordre de l'activité enregistrée au cours des années d'incidence modérée, comme les années 2005 à 2007. Ainsi, sur l'ensemble des analyses, l'activité de 2010 est environ 3 fois inférieure à l'activité de l'année épidémique 2009.

Année		**2005**	**2006**	**2007**	**2008**	**2009**	**2010**
Nombre d'échantillons testés		1195	1196	1310	2823	4512	1612
Nombre d'analyses réalisées	sérologies MAT	1195	1196	1277	2607	4479	1493
	tests PCR	202	322	252	674	936	353
	Total	1338	1518	1518	3281	5415	1846
Patients testés positifs pour la Leptospirose		67	99	110	210	214	50
% positifs		5,6 %	8,3 %	8,4 %	7,4 %	4,7%	3,1%

Cette baisse d'activité semble principalement refléter une baisse du nombre de cas réels, plutôt qu'une moindre sensibilisation du corps médical, puisqu'elle s'accompagne également d'une diminution du taux de confirmation (3,1 %).

Il est également intéressant de noter que les mêmes conditions météorologiques (sécheresse) ont probablement également contribué à contenir l'activité de la dengue à un niveau bas, diminuant ainsi les difficultés de diagnostic différentiel entre ces deux maladies.

3.2. RESULTATS GLOBAUX POUR LA NOUVELLE-CALEDONIE

3.2.1. ACTIVITE ET NOMBRE DE CAS

Année 2010	2010 (activité locale Nouvelle-Calédonie)
Nombre d'échantillons testés	1482
cas confirmés	36
cas probables	6
Total	**42**

Parmi ces 43 cas :

- 6 cas ont été diagnostiqués par séroconversion ou séroascension,
- 19 l'ont été par PCR uniquement,
- 11 cas l'ont été par PCR + sérologie,
- 6 (cas probables) l'ont été par une sérologie MAT positive sur un seul prélèvement.

3.2.2. ÉVOLUTION AU COURS DE L'ANNEE

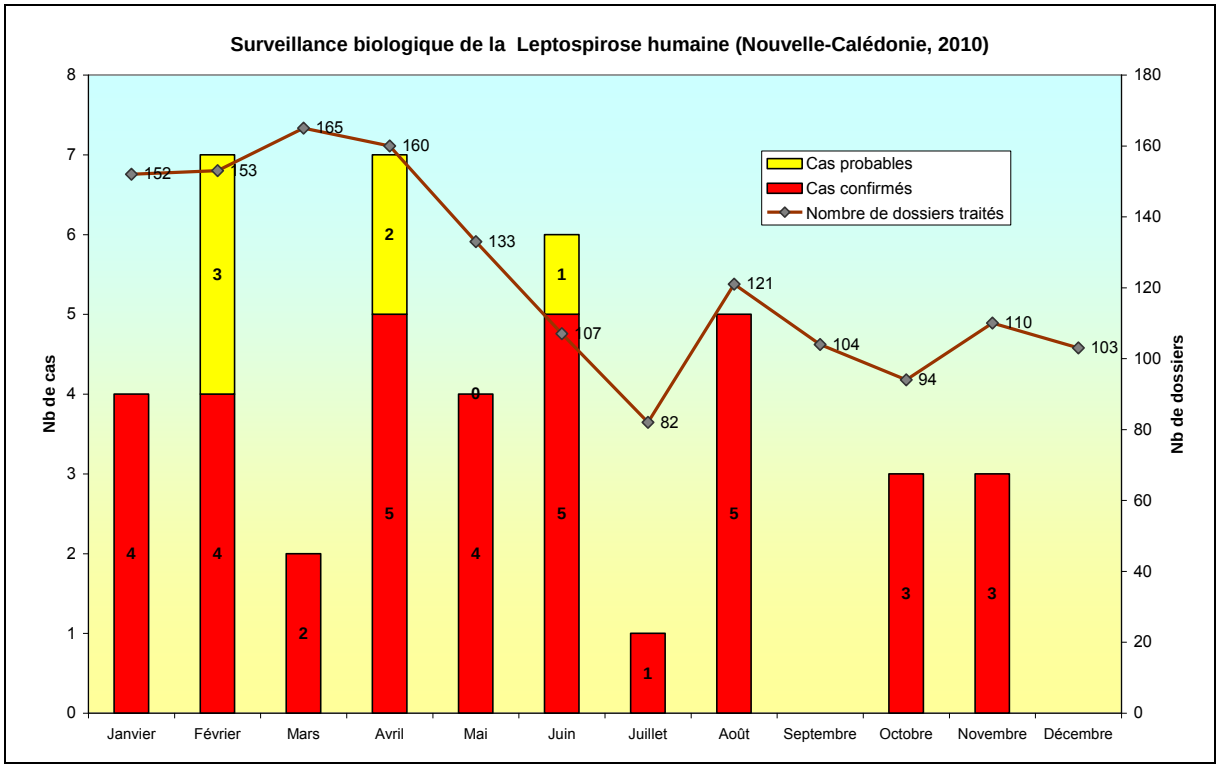


Figure 2 : Évolution mensuelle du nombre de patients testés et des cas positifs de leptospirose en Nouvelle-Calédonie au cours de l'année 2010.

Comme le montre la figure 2 ci-dessus, la leptospirose est restée à un niveau relativement modéré, probablement proche du niveau endémique de cette maladie en Nouvelle-Calédonie. Ainsi, aucun cas n'a été diagnostiqué au cours des mois de septembre et décembre, et seuls 2 cas ont été notés au mois de mars, période de recrudescence au cours des années épidémiques (par exemple, 30 cas en mars 2008 et 40 cas en mars 2009). De façon plus globale, le nombre des cas observés au cours des mois de février à avril (période d'incidence maximale) est de 16 cas en 2010, contre 98 et 102 en 2008 et 2009 respectivement. Le premier semestre regroupe ainsi 30 cas, soit plus de 70% des cas de l'année, une situation saisonnière similaire (quoique moins marquée) à celle des années épidémiques. Toutefois, la mise en évidence de cas tout au long de l'année illustre à nouveau l'endémicité de cette maladie en Nouvelle-Calédonie.

3.3. DONNEES CONCERNANT LES CAS DE LEPTOSPIROSE DE NOUVELLE-CALEDONIE - DONNEES DASS

Sur les 42 cas confirmés ou probables, 37 fiches de déclaration obligatoire ont été enregistrées. Seules 15 fiches ont été reçues par voie de déclaration, les autres 22 fiches ont été reconstituées à partir du dossier de patient par les médecins de la DASS.

3.3.1. ORIGINE GEOGRAPHIQUE DES MALADES (COMMUNE DE RESIDENCE)

L'incidence annuelle sur l'ensemble de la Nouvelle-Calédonie est de 17,1 cas pour 100 000 habitants (contre plus de 65 cas pour 100 000 habitants en 2009). Le nombre de cas relativement faible rend néanmoins peu pertinent un calcul d'incidence par commune et sa représentation géographique puisque pour de nombreuses communes un seul cas a été diagnostiqué. Il demeure intéressant de noter que l'incidence de la leptospirose dans les communes du grand Nouméa (en grisé sur le tableau ci-dessous) est inférieure à celle des communes de l'intérieur, témoignant à nouveau du caractère rural de cette infection en Nouvelle-Calédonie. Deux patients résident dans les communes de Maré et de l'Île des Pins où les cas de leptospirose sont habituellement très rares. Néanmoins, selon les informations issues de la fiche, le patient de l'Île des Pins aurait fréquenté la commune de Poindimié. Pour le patient de Maré, ces informations de sont pas disponibles.

Tableau 1 : Répartition géographique des cas confirmés et probables de leptospirose et incidence pour 100 000 habitants, Nouvelle-Calédonie, 2010.

Commune déclarée	Cas	population municipale	incidence / 100 000
Nouméa	6	97 579	6,1
Mont Dore	4	25 683	15,6
Paita	3	16 358	18,3
Canala	3	3 341	89,8
Poindimié	3	4 818	62,3
Ouégoa	3	2 132	140,7
Yaté	2	1 881	106,3
Bourail	2	4 999	40,0
Touho	2	2 247	89,0
Ponerihouen	2	2 384	83,9
Hienghène	2	2 399	83,4
Pouébo	2	2 416	82,8
Dumbéa	1	24 103	4,1
Koné	1	5 199	19,2
Farino	1	3 323	30,1
Iles des Pins	1	1 969	50,8
Maré	1	5 417	18,5
Thio	1	2 629	38,0
Kouaoua	1	1 345	74,3
Houaïlou	1	3 945	25,3
Nouvelle-Calédonie	**42**	245 580	17,1

3.3.2. AGE ET SEXE DES MALADES

Le sexe ratio M/F est de 1,6 et l'âge moyen est de 40 ans (9 à 84 ans). La répartition des malades par tranches d'âges et par sexe se présente de la façon suivante :

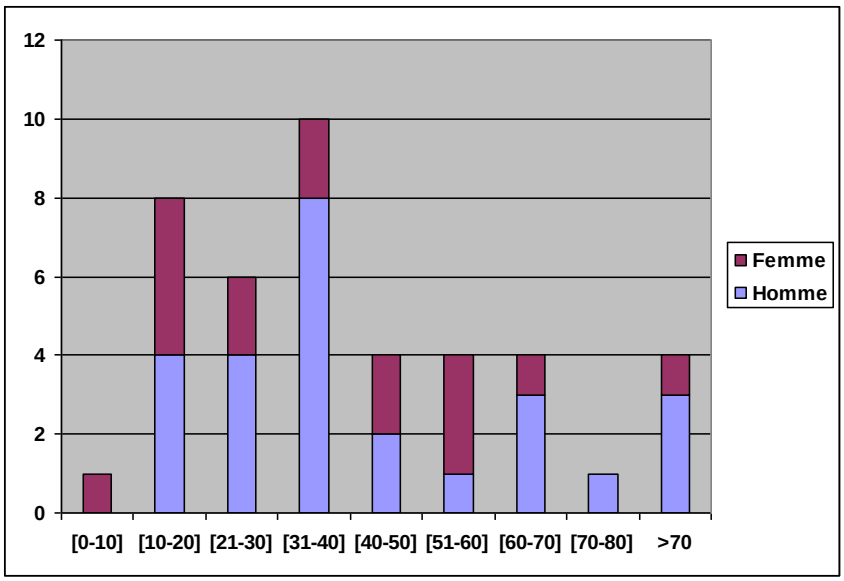


Figure 3 : Répartition des cas de leptospirose par tranche d'âge et par sexe, Nouvelle- Calédonie, 2010.

3.3.3. SIGNES CLINIQUES & FACTEURS D'EXPOSITION

Le faible nombre de fiches disponibles pour les cas de leptospirose (15) empêche malheureusement toute analyse pertinente des signes cliniques ou des facteurs d'exposition, puisque celle-ci repose sur la comparaison entre cas et témoins. Une description des 15 cas ayant fait l'objet d'une déclaration spontanée est présentée dans le tableau 2.

Néanmoins, cette analyse a pu être complétée à posteriori grâce aux 22 fiches supplémentaires reconstituées par la DASS.

Tableau 2 : Résumé des 15 cas probables et confirmés pour lesquels une fiche de déclaration a pu être obtenue, Nouvelle-Calédonie, 2010.

Patient	Age (années)	Sexe	Commune de résidence	Signes cliniques	Exposition	Cas	serovar
1	9	F	Nouméa	Myalgies	Porc, chien, chat	Probable	Panama
2	14	M	Kouaoua	Céphalées, myalgies		Confirmé	Icterohaemorrhagiae
3	17	M	Touho	Céphalées, myalgies, insuffisance rénale	Pêche et baignade en eau douce	Probable	
4	26	M	Hienghène	Céphalées, myalgies	Pêche en eau douce	Confirmé	
5	26	M	Nouméa	Céphalées, myalgies	Rats	Confirmé	
6	33	M	Poindimié	Myalgies, ictère, Suffusions conjonctivales, insuffisance rénale	Chien, rat, pêche et baignade en eau douce	Confirmé	Icterohaemorrhagiae Copenhagenii
7	39	M	Yaté	Céphalées, myalgies, Suffusions conjonctivales	Chien, pêche en eau douce	Confirmé	
8	40	M	Inconnu	Céphalées, myalgies, ictère, insuffisance rénale	Porcs, cerfs, chasse	Confirmé	Icterohaemorrhagiae
9	42	M	Pouébo	Céphalées, myalgies, signes pulmonaires, insuffisance rénale	Cheval, chien, rats, cerf, baignade en eau douce	Confirmé	Canicola
10	44	M	Nouméa	Céphalées, myalgies, signes pulmonaires, insuffisance rénale	Chien, rats	Confirmé	Icterohaemorrhagiae Copenhagenii
11	54	F	Ponérihouen	Céphalées, myalgies, insuffisance rénale	Chien, rat, baignade en eau douce	Confirmé	
12	55	F	Poindimié	Céphalées, myalgies, signes pulmonaires	Bovin, porc, cheval, chien, rats, cerf	Probable	
13	65	M	Poindimié	Ictère, signes pulmonaires	Pêche et baignade en eau douce	Probable	Icterohaemorrhagiae Copenhagenii
14	66	M	Bourail	?	Bovin, cheval, chasse	Probable	
15	71	F	Bourail	Céphalées, Suffusions conjonctivales, signes pulmonaires, méningite	?	Confirmé	

3.3.4. MORTALITE

Parmi les 42 cas de leptospirose diagnostiqués, un décès a été noté.

3.3.5. SEROGROUPES IDENTIFIABLES PARMI LES CAS POSITIFS (22 SUR 43)

Le sérogroupe est identifié de façon présomptive par l'antigène donnant le titre le plus élevé dans la réaction sérologique de micro-agglutination. Comme au cours des années précédentes, le sérogroupe est le plus fréquemment impliqué dans les cas diagnostiqués en 2010. Néanmoins, contrairement à ce qui est observé au cours des années épidémiques, celui-ci ne représente que 8 cas sur 21, soit 36% des cas, contre 79 cas pour 101 identifiés (78,2%) en 2009. Ceci pourrait témoigner que l'effet des conditions climatiques et météorologiques est principalement notable sur le réservoir que constituent les rongeurs, et que cet effet est notablement moindre sur les autres espèces réservoirs.

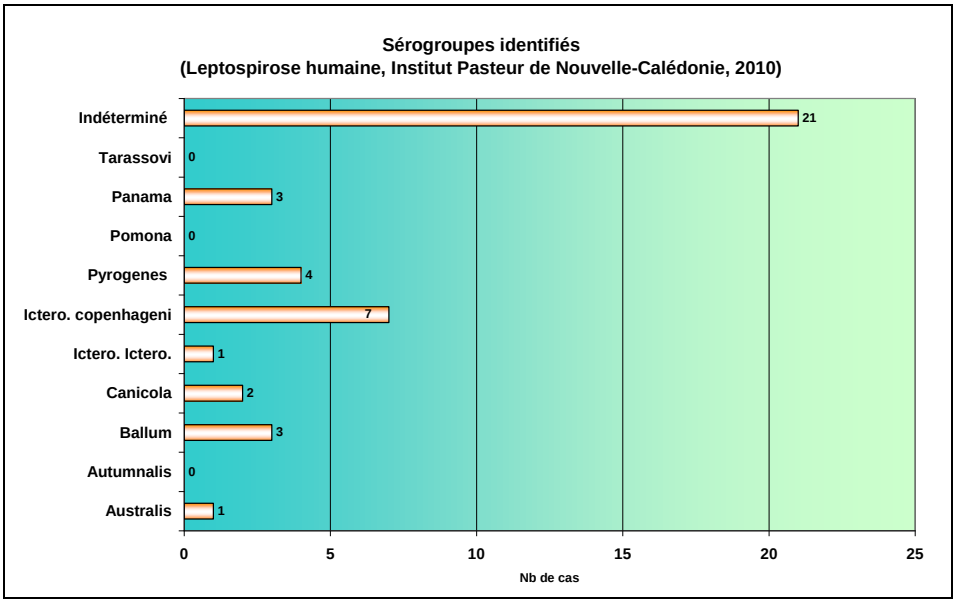


Figure 4 : Sérogroupes identifiés parmi les cas de leptospirose, Nouvelle-Calédonie, 2010. (Cas indéterminés = PCR positive seule ou sérologie MAT positive avec coagglutination)

3.3.6. ESPECES GENOMIQUES ET GENOTYPES IDENTIFIABLES (28 PRODUITS DE PCR SUR 31)

Trente cas sur les 42 diagnostiqués (71%) l'ont été par PCR, ou par combinaison de la PCR et de la sérologie. La PCR en temps réel utilisée à l'IPNC permet la différentiation de plusieurs espèces génomiques de *Leptospira* en fonction du Tm, notamment des deux espèces présentes en Nouvelle-Calédonie, *L. interrogans* et *L. borgpetersenii*. Les travaux de recherche du Laboratoire de Recherche en Bactériologie ont permis de mettre en place une identification du sérogroupe présomptif par le séquençage du produit de la PCR diagnostique. Cette approche a permis d'attribuer présomptivement 17 cas sur 28 (près de 61%) au sérogroupe Icterohaemorrhagiae, 3 cas au sérogroupe Ballum, 2 cas au sérogroupe Bataviae et 6 cas (21,4%) à une souche qui pourrait représenter un nouveau sérovar, vraisemblablement au sein du sérogroupe *Pyrogenes*. Ces résultats, issus du génotypage des souches infectantes, tendent à confirmer le rôle dominant (mais non exclusif) du sérogroupe *Icterohaemorrhagiae*, mais également la place significative qu'occupe, en Nouvelle-Calédonie, cette souche pathogène de sérovar inconnu, dont le réservoir animal demeure à identifier.

3.4. SITUATION DE FUTUNA - EN COLLABORATION AVEC L'AGENCE DE SANTE A WALLIS & FUTUNA

L'île de Futuna (archipel de Wallis & Futuna) connaît depuis 2003 de fortes épidémies saisonnières de leptospirose. Au cours de l'année 2010, 114 demandes ont été adressées à l'IPNC, principalement des sérologies, puisque seulement 5 demandes de PCR ont été prescrites. Parmi ces 114 demandes, 12 cas ont pu être biologiquement confirmés, 2 par PCR et 10 par sérologie. Le sérogroupe *Icterohaemorrhagiae* a été identifié comme impliqué dans 9 cas, le sérogroupe *Australis* dans 1 cas, deux cas n'ont pas été déterminés (diagnostiqués par PCR). Comme au cours des années précédentes, on retrouve les 2 mêmes sérogroupes, *Icterohaemorrhagiae* (dont le réservoir est très probablement constitué de rats) apparaissant majoritaire en 2010.

4. CONCLUSION

Contrastant avec les deux précédentes années marquées par des épidémies notables de leptospirose, l'année 2010 a été marquée par un niveau modéré de leptospirose, probablement proche du niveau basal de l'endémie.

Cette situation est certainement à mettre en parallèle d'un contexte météorologique de sécheresse, sous l'influence du phénomène « El Niño ». Le diagnostic moléculaire précoce occupe toujours une place importante, étant intervenu dans la confirmation de 30 cas sur 42 (71,4 %), y compris 19 cas (45,2 %) pour lesquels seule la PCR a été mise en œuvre. Il est vraisemblable que ce diagnostic précoce contribue à la faible létalité de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie, un seul décès lui ayant été attribué en 2010.

Parallèlement, les activités de recherche visent à améliorer les informations épidémiologiques qui peuvent être obtenues à l'aide des échantillons permettant le diagnostic moléculaire. Ces travaux ont abouti à une technique validée, venant ainsi compléter la description épidémiologique des souches infectantes, parallèlement aux résultats déduits de la sérologie.
L'activité régionale s'est maintenue dans le cadre du suivi de la leptospirose sur l'île de Futuna, sans que nous sachions si la diminution de la demande d'analyses correspond à un changement de l'approche diagnostique ou à une diminution de l'incidence.
Les travaux de recherche menés en parallèle sur la dynamique des populations de rongeurs et leur portage de Leptospires pathogènes ont également bénéficié du contraste climatique entre les années 2009 et 2010. L'analyse de l'ensemble de ces résultats permettra de mieux appréhender le rôle des rongeurs dans la dynamique des épidémies de leptospirose en Nouvelle-Calédonie.

SURVEILLANCE DE LA GRIPPE ET AUTRES VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable
- Ann-Claire GOURINAT, pharmacien biologiste

Partenariat et collaborations
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- Membres du comité de lutte contre la grippe
- Réseau sentinelle grippe de Nouvelle-Calédonie
- Secrétariat de la Communauté du Pacifique (financement par le CDC d'Atlanta, USA)
- CNR Grippe à l'IP

Centre de Référence
- CCOMS Grippe, Melbourne, Australie

Cofinancement
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)

Introduction

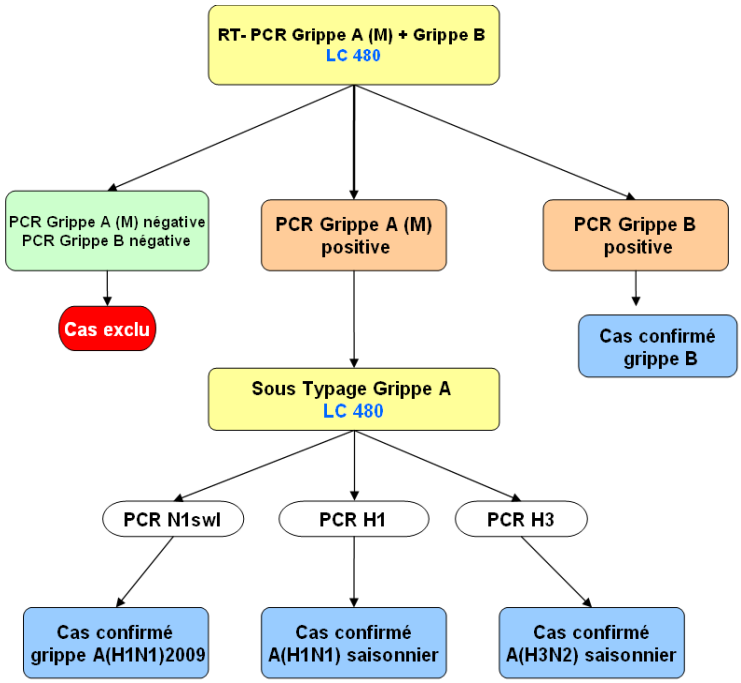
La grippe est un problème majeur de santé publique par la morbidité et la surmortalité importante observées au cours des épidémies et pandémies. En 2009, plus de 500 cas de grippe A(H1N1)2009 ont été confirmés biologiquement. Cette pandémie a montré l'extrême facilité du virus grippal à s'adapter à l'homme et aux animaux. La Nouvelle-Calédonie participe activement à la surveillance de la grippe à travers le Réseau Sentinelle mis en place par la DASS. Cette activité a été officiellement reconnue par l'OMS en 2004, qui a inclus l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) dans le réseau mondial des centres nationaux pour la grippe (National *Influenzae* Center, NIC). L'IPNC a su parfaitement jouer son rôle de laboratoire de référence pendant la pandémie de 2009.

1. CONTEXTE DE LA GRIPPE EN 2010

Cette année était placée sous le signe de la menace d'une potentielle deuxième vague épidémique engendrée par le virus A(H1N1)2009. Malgré l'épidémie qui a sévi dans l'hémisphère nord au début de l'année 2010, aucun cas importé n'a été reporté pendant cette même période en Nouvelle-Calédonie. Une seule épidémie liée au virus de la grippe B a été mise en évidence cette année, pendant la saison froide (grippe saisonnière de l'hémisphère sud), alors que l'Australie et la Nouvelle-Zélande subissaient une deuxième vague épidémique due au virus A(H1N1)2009.

2. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE

Après l'épidémie de 2009, la stratégie diagnostique s'est bien améliorée par rapport aux années précédentes. Désormais la biologie moléculaire est la technique de choix en matière de surveillance grippale. L'immunofluorescence n'est utilisée que pour certaines demandes émanant du service de pédiatrie. La recherche des virus grippaux de type A et B s'effectue à l'IPNC sur un équipement Light Cycler 480 (Roche), à partir des méthodes de référence du CNR grippe (IPP) et du CCOMS de Melbourne. Une RT-PCR multiplex ciblant le fragment 7 (protéines de matrice M) du génome de la grippe A, et un fragment spécifique de la grippe B sont utilisés en première intention. De même, une RT-PCR ciblant le gène de la GAPDH est réalisée pour chaque patient de manière à contrôler la présence d'inhibiteurs de PCR. En cas de positivité de la grippe A, un sous-typage est réalisé pour déterminer le sous-type circulant (H3N2/(H1N1)2009/ H1N1).



La recherche du virus aviaire A/H5N1 peut être réalisée à l'IPNC en cas de demande de suspicion lorsque des critères bien précis sont remplis. Le sous-typage est alors réalisé en utilisant le kit commercial Biomérieux Nuclisens EasyQ Influenza H5 &N1. Aucune demande de ce type n'a été faite en 2010. Le personnel technique doit être maintenu performant et les réactifs renouvelés même en l'absence de demande.

3. ACTIVITES POUR L'ANNEE 2010

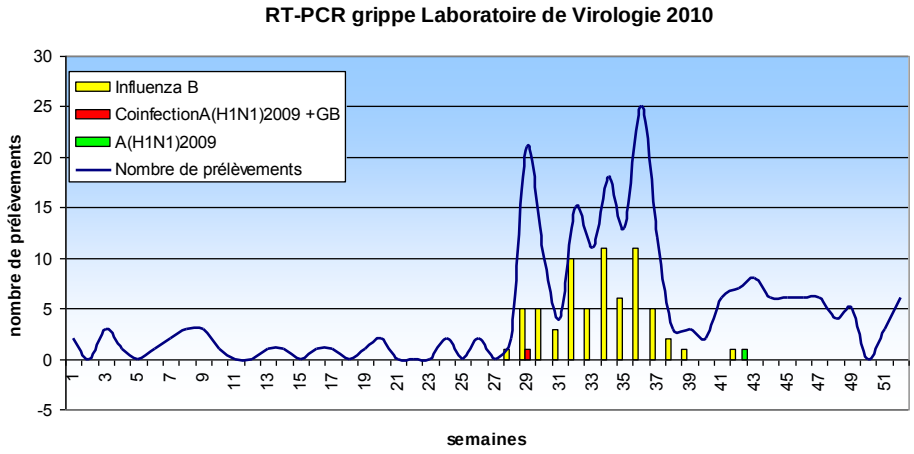
3.1. RESULTATS GLOBAUX

3.1.1. ACTIVITE ET NOMBRE DE CAS

Au total en 2010, 229 prélèvements venant du réseau sentinelle et du CHT ont été traités par RT-PCR, avec 66 cas positifs pour la grippe B (28.8%), 1 cas de co-infection grippe B et grippe A(H1N1)2009, et 1 cas de grippe A(H1N1)2009. A noter que 7 cas de grippe B (venant de la pédiatrie) ont été diagnostiqués par immunofluorescence, ce qui porte le nombre total de cas de grippe B à 73.

3.1.2. DYNAMIQUE DE L'EPIDEMIE

Le premier cas de grippe B en Nouvelle-Calédonie a été confirmé biologiquement, le 16 juillet, chez un habitant de l'île de Maré. Cette PCR a été réalisée après la notification tardive d'une recrudescence de syndromes grippaux au mois de juin, signalée par un dispensaire de Maré. Cette épidémie de grippe B a été ensuite rapidement mise en évidence par le réseau sentinelle grippe à Nouméa et par le service de pédiatrie du CHT. Un pic épidémique a eu lieu entre les semaines 32 et 35 à Nouméa. Des cas de grippe B ont été isolés ensuite en Province Nord (semaine 34). Le dernier cas de grippe B a été signalé en semaine 42.



En 2010, seulement deux cas de grippe A(H1N1)2009 ont été confirmés biologiquement. On peut donc affirmer que la Nouvelle-Calédonie n'a pas subi de "deuxième vague". Cela peut être expliqué, entre autre, par le fort taux d'attaque que le territoire ait connu en 2009 et par une séroprévalence élevée de la population engendrée par de nombreuses formes asymptomatiques.

3.2. ANALYSE VIROLOGIQUE DES SOUS-TYPES CIRCULANTS ET ETUDE DE LA RESISTANCE AUX ANTIVIRAUX

Nous avons transmis 16 souches au CCOMS grippe de Melbourne, en vue de réaliser les tests d'inhibition de l'hémagglutination, pour connaître les souches auxquelles les virus sont apparentés et leurs niveaux de résistance aux antiviraux.

Parmi les souches analysées, celles de la grippe B ont toutes été apparentées au lignage **B/Brisbane/60/2008,** sauf une, au lignage **B/Malaysia/2506/2004.**
L'étude de la résistance aux inhibiteurs de la neuraminidase n'a décelé aucune résistance à l'Oseltamivir (Tamiflu®), ni au Zanamivir (Relenza®).

4. RESEAU SENTINELLE 2010

Les médecins sentinelles tiennent un rôle essentiel dans la surveillance de la grippe. La détection précoce d'une épidémie peut permettre aux autorités sanitaires de diffuser des messages de prévention à la population, mais également, si des prélèvements sont adressés à l'Institut Pasteur, d'isoler des souches grippales pouvant rentrer dans les compositions vaccinales. L'analyse plus poussée de ces souches permet également de surveiller la résistance du virus grippal aux antiviraux susceptibles d'être utilisés en cas de pandémie grippale.

Les prélèvements respiratoires (écouvillon nasal et pharyngé) accompagnés d'une fiche de renseignement clinique sont transmis à l'IPNC, et le nombre des consultations des syndromes pseudo-grippaux sont transmis à la DASS-NC directement par les médecins du réseau.

Une RT-PCR grippe A et grippe B est réalisée sur tous les prélèvements respiratoires reçus à l'IPNC. Si la PCR est négative et que plusieurs patients sont atteints d'un syndrome pseudo-grippal, des investigations supplémentaires peuvent être menées à la demande de la DASS-NC. Une PCR multiplex recherchant différents virus respiratoires est alors mise en œuvre pour trouver l'étiologie d'un foyer épidémique.
Les résultats et les fiches de renseignements sont transmis à la DASS-NC de façon hebdomadaire.

Site	Lieu
CMIA (Centre Médical Inter-Armée)	*Nouméa*
Urgences CHT Magenta (pédiatrie)	*Nouméa*
Urgences CHT Gaston Bourret	*Nouméa*
Centre Médical CAFAT Receiving	*Nouméa*
Centre Médical CAFAT Rivière Salée	*Nouméa*
CMS Ile des Pins	*Iles des Pins*
CMS Chépénehé	*Lifou*
Urgences Hôpital de Poindimié	*Poindimié*
Urgences Hôpital de Koumac	*Koumac*
Centre médical Vavouto (usine du Nord)	*Koné*
Centre médical de Goro (usine du Sud)	*Goro*

Le nombre de sites faisant partie du réseau sentinelle grippe 2010 a augmenté par rapport à 2009 et s'étend à l'ensemble du territoire et des îles.

5. MISE A JOUR DE LA FORMULATION VACCINALE

La variabilité des virus grippaux impose une surveillance continue et mondiale des virus responsables d'épidémies de grippe. Compte tenu du décalage de 6 mois des saisons grippales entre les deux hémisphères, l'OMS publie deux fois par an une formulation optimale du vaccin, en octobre, en tenant compte des données récentes de l'hiver austral, et en février pour l'hémisphère Nord. Il faut bien préciser que ces deux formulations ne correspondent pas à deux recommandations différentes et spécifiques pour le Nord et le Sud, mais sont, en fait, une actualisation semestrielle plutôt qu'annuelle d'un même vaccin, le plus récent étant par évidence le plus efficace.

Les conférences de consensus sur l'actualisation des vaccins grippaux, tenues en février et septembre 2010 ont proposé les formulations suivantes pour les vaccins :
Pour l'hémisphère Nord (WHO-Weekly Epidemiological Record, Vol. 85, 10, 2010, (81–92) :

- un virus de type A/California/7/2009 (H1N1),
- un virus de type A/Perth/16/2009 (H3N2),
- un virus de type B/Brisbane/60/2008.

Pour l'hémisphère Sud, les recommandations sont les mêmes que pour l'hémisphère Nord.

6. RECOMMANDATIONS LOCALES

Il semble désormais acquis que les périodes de circulation des virus grippaux en Nouvelle-Calédonie peuvent être multiples et peu prévisibles dans une même année.

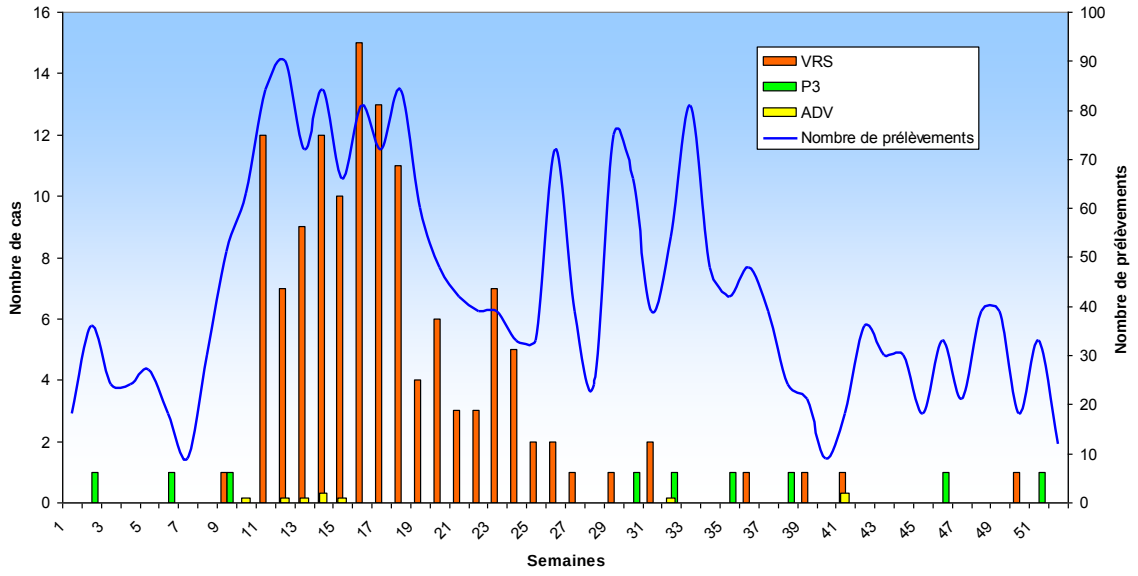
En l'état actuel, la vaccination est recommandée pour des raisons stratégiques (approvisionnement en vaccins, disponibilité des patients…), en fin d'année, avant les grandes vacances scolaires. Si l'immunisation ainsi conférée semble adéquate pour les Calédoniens voyageant en France en janvier, février ou pour les flambées locales souvent rencontrées de mars à juillet, la couverture du pic d'origine régionale, à partir de juin ou plus tardif, est moins évidente.

7. AUTRES VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE

Les demandes de recherche de virus respiratoires : Adénovirus (ADV), Virus Respiratoire Syncytial (VRS) et Virus *Parainfluenzae* de type 3 (P3), proviennent des services du CHT (pédiatrie en majorité).

La mise en évidence de ces virus se fait par immunofluorescence indirecte (Mono Fluo Kit Biorad®).

Circulation des virus VRS, Parainfluenzae III et Adénovirus en 2010



Comme chaque année, un pic de circulation du VRS a été observé durant la fin du premier trimestre. Cependant, une augmentation des cas a été notée en 2010 (130 cas versus 81 en 2009). L'essentiel des patients sont des enfants de moins de 1 an (81%), hospitalisés pour une bronchiolite.

Une circulation plus discrète du virus *Parainfluenzae* III et Adénovirus a également été mise en évidence de façon plus sporadique pendant l'année.

8. FORMATION DU PERSONNEL DE LABORATOIRE, LABORATOIRE P2+

La formation du personnel au travail en laboratoire de biosécurité niveau P3 et diagnostic de grippe aviaire a continué en 2010, puisqu'une deuxième technicienne a été accueillie à l'Institut Pasteur du Cambodge pendant 15 jours dans le cadre du programme de formation débuté en 2008 et subventionné par un budget de la CPS (PRIPP).

Enfin, la construction d'un laboratoire de biosécurité niveau P2+ tant attendue n'aura lieu qu'en 2011 (financement par le Gouvernement et l'IPNC). Un laboratoire de niveau P3 sera disponible en 2015 dans le médipôle ; il permettra au personnel de travailler dans des conditions conformes à la manipulation des agents infectieux hautement pathogènes.

9. CONTROLE DE QUALITE EXTERNE

L'IPNC a continué en 2010 à participer aux contrôles de qualité de l'OMS pour la grippe aviaire (envoi semestriel). Les résultats ont été satisfaisants puisque toutes les souches grippales A(H5N1), A(H1N1)2009, A et B saisonnier ont été identifiées avec succès.

10. ACTIVITES REGIONALES

L'Institut Pasteur pilote un projet régional pour le développement de la surveillance de la grippe humaine saisonnière dans les états insulaires du Pacifique, en collaboration avec le Réseau Océanien de Surveillance de la Santé Publique (ROSSP), créé sous l'égide de la Communauté du Pacifique (CPS) et de l'OMS – bureau régional de Manille.

En l'état, seules la Nouvelle-Calédonie et la Polynésie Française conduisent une surveillance continue et performante de la grippe. De fait, la région apparaît comme une « zone d'ombre » problématique car proche de l'Asie du Sud-est dans le réseau mondial de l'OMS. A terme, ce programme équipera 6 territoires pour la détection et la surveillance continue des viroses respiratoires majeures : Grippe A et B et le virus respiratoire syncytial (VRS). Ses composantes majeures sont :

- la mise en place, dans les états participants, de moyens de laboratoire simples, mais fiables et sensibles, en l'occurrence la détection virale directe par immunofluorescence,
- la confirmation par PCR à partir d'échantillons conservés dans l'éthanol, transmis à Nouméa,
- la création de réseaux sentinelles localement représentatifs.

Une seule demande de PCR grippe venant de Wallis et Futuna a été transmise à l'IPNC en juin 2010. Cette recherche s'est révélée négative.

Conclusions

Le début de l'année 2010 a été marqué par la crainte d'une éventuelle 2ème vague importée par des voyageurs revenant de l'hémisphère nord. Une vigilance particulière a eu lieu tout au long de l'année et s'est manifestée par un remaniement du système de surveillance. La DASS-NC a modifié une partie des sites appartenant au réseau sentinelle grippe, avec plus de sites déployés sur l'ensemble du territoire et les îles. En matière de surveillance biologique, l'expérience acquise au cours de l'épidémie de 2009, a montré que la PCR temps réel était la technique de choix à utiliser en 1ère intention au sein d'un système de surveillance performant. Le dépistage biologique de la grippe dans le cadre du réseau sentinelle s'est donc appuyé durant l'année 2010 sur un dépistage uniquement par PCR temps réel des virus grippaux de type A et B.

SURVEILLANCE DU VIH EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable
Ann-Claire GOURINAT, pharmacien biologiste

Partenariat
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- Centre Médical Polyvalent de Nouméa
- Centre Protection materno-infantile

Introduction

L'IPNC est le laboratoire de référence pour la confirmation du diagnostic de l'infection par le VIH et du suivi biologique propre à cette infection. De même, l'arrivée de patients séropositifs sur le territoire doit être déclarée par le médecin traitant à l'IPNC qui attribuera un identifiant anonyme à ce nouveau patient. L'évolution de l'infection par le VIH chez les patients séropositifs est actuellement de mieux en mieux contrôlée, notamment grâce à un panel plus large d'antirétroviraux disponibles. D'autre part, de nouveaux outils biologiques sont désormais disponibles et peuvent apporter une aide précieuse aux cliniciens. En 2010, 14 nouveaux patients ont été diagnostiqués ou déclarés à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie et ont pu bénéficier d'une prise en charge optimum au niveau thérapeutique et biologique.

1. ACTIVITES DE DEPISTAGE TRAITEES A L'IPNC

1.1. DONNEES QUANTITATIVES

Type de Dépistage	Dépistages par l'IPNC en 2010
Nominatif	2537
Anonyme	1448
Total	3985

Les dépistages anonymes sont essentiellement effectués au Centre Médical Polyvalent de Nouméa, 1372 soit 95% des demandes.

1.2. DONNEES QUALITATIVES

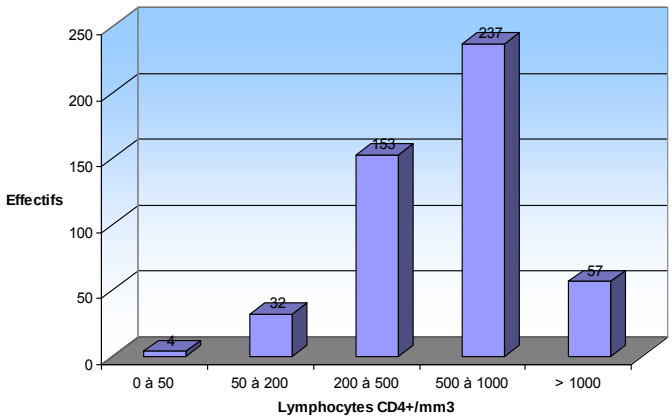
Durant l'année 2010, 7 nouvelles infections (6 hommes et 1 femme) ont été détectées parmi des résidents de Nouvelle-Calédonie. Le dépistage avait été initié à chaque fois par un médecin généraliste, et pour 2 cas le dépistage a été réalisé pendant la phase de primo-infection.

Dans le même temps, 7 patients connaissant préalablement leur séropositivité, sont arrivés sur le territoire.

2. EXAMENS DE SUIVI

2.1. NUMERATION DES LYMPHOCYTES CD4

La technique utilisée est la cytométrie de flux après double marquage immuno-fluorescent CD4/CD3, ou CD8/CD3 sur automate Facscount® (Becton Dickinson™). En 2010, 483 demandes ont été traitées par le laboratoire d'hématologie, soit une augmentation de 11% par rapport à 2009.



2.2. LA MESURE DE LA CHARGE VIRALE PLASMATIQUE

2.2.1. TECHNIQUE UTILISEE

La quantification de l'ARN du VIH est réalisée par méthode PCR basée sur le principe NASBA (*Nucleic Acid Sequence Based Amplification*) avec détection en temps réel. (Nuclisens Easy-Q HIV1, bioMérieux). Depuis avril 2010, c'est la version 2.0 qui est utilisée. Ce nouveau test est capable de détecter des charges virales, mêmes faibles (supérieures à 10 copies d'ARN viral par ml), offrant ainsi l'un des plus hauts degrés de sensibilité disponibles sur le marché. Une extraction automatisée de l'ARN par la silice magnétique, sur l'automate EasyMag (bioMérieux) est préalablement réalisée.

En 2010, la fréquence d'exécution des analyses est de 3 à 4 séries par mois, correspondant à un délai moyen de réponse d'une semaine.

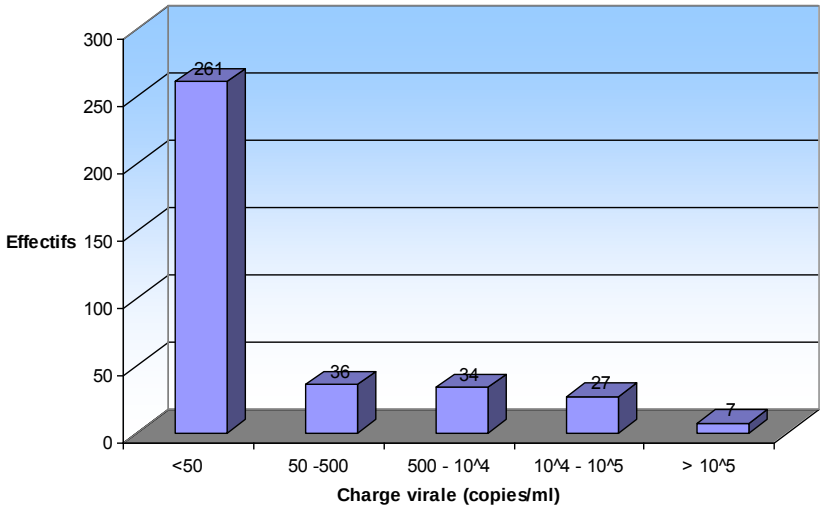
2.2.2. ANALYSE DES PRESCRIPTIONS

365 prescriptions de charges virales HIV ont été reçues, leurs origines se répartissent comme suit :

- ⇒ CDAG (CMP et dispensaires Païta - Dumbéa) ..... 28.2 %
- ⇒ CHT… ..... .48 %
- ⇒ médecins libéraux : . . .. 15.9 %
- ⇒ laboratoires privés :..... 7.9 %

2.2.3. RESULTATS GLOBAUX CHEZ LES PATIENTS INFECTES

La présence d'ARN viral dans le plasma témoigne d'une réplication virale constante dans l'organisme. La charge virale peut varier dans de nombreuses circonstances : stade de l'infection (primo-infection, phase silencieuse, stade SIDA), en fonction de son traitement (résistance, interactions médicamenteuses, observance…), du sous-type de VIH qui peut être plus ou moins bien détecté par PCR. La répartition des résultats des charges virales sur 365 prescriptions est la suivante :



3. EXAMENS SPECIALISES

De nouvelles analyses sont venues compléter ces dernières années le suivi des patients séropositifs et peuvent sans conteste aider le clinicien à leur meilleure prise en charge. Il s'agit en premier lieu du génotypage de résistance aux antirétroviraux, de l'ADN proviral du HIV, du dépistage du HLA B5701 et du test de tropisme CCR5.

3.1. GENOTYPAGE DE RESISTANCE AUX ANTIVIRAUX

Pour optimiser la prise en charge médicamenteuse de l'infection VIH, il devient indispensable pour chaque patient de connaître le profil de résistance de leur souche. Depuis 2007, un génotypage de résistance est donc réalisé de façon systématique chez tous les patients, avant toute instauration d'un traitement antirétroviral. Ceci permet d'adapter d'emblée le traitement pour les patients contaminés par une souche présentant des résistances. D'autre part, cet examen peut être demandé pour les patients en échec thérapeutique afin de modifier efficacement leur traitement, ou dans le but d'observer une restauration de la sensibilité à certains antirétroviraux lorsqu'une fenêtre thérapeutique à un ou à l'ensemble des médicaments est réalisée.

Cet examen est confié au laboratoire CERBA à Paris. La technique utilisée consiste à établir les séquences nucléotidiques des deux cibles des antiviraux : la Transcriptase Inverse et la Protéase (Trugene, Bayer). La recherche des mutations associée à un phénotype de résistance est ensuite effectuée par comparaison avec une banque de données actualisées (algorithmes ANRS). En 2010, 31 génotypes de résistance ont été envoyés au laboratoire CERBA.

Famille d'antiviraux		Souches résistantes à au moins un représentant de la famille	Souches sensibles
Inhibiteurs de la transcriptase inverse	Patients dépistés sur le territoire	5	15
	Patients dépistés hors territoire	5	3
Antiprotéases	Patients dépistés sur le territoire	3	17
	Patients dépistés hors territoire	4	4

3.2. DEPISTAGE DU HLA B5701

Ce test permet de mettre en évidence un risque d'hypersensibilité à l'abacavir. En effet, les patients chez lesquels un HLAB5701 est mis en évidence, présentent un risque accru de développer des effets secondaires graves sous traitement par l'abacavir par rapport aux patients non porteurs de ce HLA.
Cette analyse fait désormais partie du bilan initial de tout nouveau patient séropositif en Nouvelle-Calédonie et est envoyée au laboratoire CERBA. En 2010, 9 demandes ont été transmises.

3.3. ADN PROVIRAL DU HIV

L'ADN proviral du HIV est détectable par PCR dans le sang périphérique. Contrairement à l'ARN du VIH (ou charge virale), il est détectable en permanence, même sous traitement antirétroviral efficace. Sa recherche permet de confirmer une infection et est utilisée de ce fait chez les nouveau-nés de mères séropositives, chez lesquels la sérologie n'est pas indicative en raison des anticorps maternels, et une charge virale ne peut en aucun cas exclure une contamination.
Cette analyse fait désormais partie du bilan de suivi des bébés nés de mères séropositives en Nouvelle-Calédonie et est envoyée au laboratoire CERBA. Un seul enfant a été suivi par cette technique en 2010 et la recherche de l'ARN proviral a été négative.

3.4. TEST DE TROPISME CCR5

Le Maraviroc (Celsentri®) est une molécule antagoniste sélective et réversible du récepteur CCR5 utilisée dans le traitement du VIH, en association avec d'autres médicaments antirétroviraux. La détermination du tropisme viral est nécessaire en préalable au traitement par un antagoniste du CCR5, car ce traitement n'est pas efficace pour les patients infectés par des virus à tropisme autre que R5.
La détermination du tropisme du VIH-1 est réalisée au laboratoire de virologie de l'hôpital St Louis (AP-HP) par un test génotypique. A partir du séquençage de l'ARN viral, des algorithmes informatiques permettent de prédire le phénotype du virus. Une amplification puis un séquençage des boucles V3 de la gp120 des virus plasmatiques du patient constituent la première étape. Différents algorithmes sont appliqués pour déterminer une probabilité du tropisme viral du patient en fonction des séquences amplifiées. En 2010, 3 demandes de détermination du tropisme ont été transmises.

4. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

4.1. FILE HIV AU 31/12/2010

Le cumul des cas des patients déclarés séropositifs, enregistrés à l'Institut Pasteur est de 344, dont 190 (55.2%) dépistés localement et 154 connaissant leur statut avant leur arrivée en Nouvelle-Calédonie. Parmi ces patients, on compte 85 femmes, 253 hommes et 6 patients de sexe non précisé lors de la déclaration.

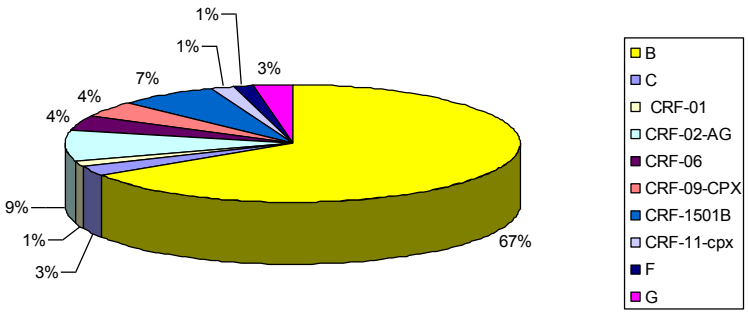
Année	Dépistés hors NC	Dépistage local	Sexe féminin	Sexe masculin	Inconnu (CDAG)	Total
2010	7	7	2 (14%)	12 (85%)	0	14
Cumul 1986-2010	**154**	**190**	**85 (25%)**	**253 (73%)**	**6 (2%)**	**344**

Parmi les patients, on compte 5 enfants contaminés à la naissance (dont 3 dépistés localement et 2 encore suivis en Nouvelle-Calédonie en 2010). Au total, 24 enfants nés de mères séropositives ont été signalés. La plupart font l'objet d'un suivi depuis leur naissance.

4.2. ETUDE DES TYPES ET SOUS-TYPES VIRAUX CIRCULANT EN NOUVELLE-CALEDONIE

Depuis 1986, date de la première notification d'un cas de séropositivité VIH en Nouvelle-Calédonie, 344 patients ont été déclarés à l'Institut Pasteur. La quasi-totalité des virus sont de type 1, seuls 2 patients étaient porteurs du VIH-2. Sur 70 patients ayant eu un génotypage depuis 2004, les sous-types suivants ont été retrouvés :

Répartition des sous-types de HIV en Nouvelle-Calédonie
(cumul des données jusqu'au 31/12/2010)



Parmi les nouveaux patients dépistés en Nouvelle-Calédonie, 3 était apparentés au VIH-1 sous-type non B (CRF-02-AG) et 4 autres au sous-type B.

Conclusion

Le nombre de patients diagnostiqués ou déclarés à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie en 2010 reste globalement stable par rapport aux années précédentes. Cependant, on observe une augmentation du nombre de cas dépistés localement (7 cas en 2010 contre 4 en 2009). Il ne faut donc pas relâcher les moyens de surveillance et de lutte, en raison de la forte prévalence des infections sexuellement transmissibles sur le territoire.

SURVEILLANCE DE LA DENGUE EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable
- Ann-Claire GOURINAT, pharmacien biologiste

Collaborateurs IPNC
- Laurent GUILLAUMOT, responsable laboratoire entomologie
- Myrielle DUPONT, chercheur virologiste
- Eric D'ORTENZIO, Responsable de l'Unité d'épidémiologie des maladies infectieuses (depuis septembre 2010)

Partenariat
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- Organismes de lutte anti-vectorielle (SIPRES [Nouméa], communes)
- Réseau de surveillance sentinelle dengue
- Secrétariat de la Communauté du Pacifique
- Institut Malardé, Papeete, Tahiti

Centre de Référence
- CCOMS Dengue & Arbovirose, Brisbane, Australie

Cofinancement
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)

Introduction

La dengue est une arbovirose humaine due à un virus de la famille des Togaviridae du genre Flavivirus. Quatre sérotypes de virus (DEN-1, DEN-2, DEN-3 et DEN-4) sont actuellement connus. En Nouvelle-Calédonie, le vecteur de la dengue est un *Culicidae* (moustique) *Aedes aegypti.* Cette virose est endémique dans le Pacifique et s'y manifeste périodiquement sous forme épidémique.
L'IPNC est le laboratoire de référence pour la dengue en Nouvelle-Calédonie et participe en collaboration avec les autorités sanitaires à sa surveillance et à son diagnostic.
Deux épidémies de dengue incriminant d'abord le sérotype DEN-1 en 2008, puis des sérotypes DEN-4 (majoritaire) et DEN-1 en 2009 se sont succédé en Nouvelle-Calédonie. La persistance du sérotype DEN-1 pendant plus de 2 ans, avec des cas sporadiques diagnostiqués en inter-épidémie et en saison fraîche, suggère fortement l'installation d'une situation endémo-épidémique sur le territoire.

1. LE RESEAU SENTINELLE DE L'ANNEE 2010

1.1. COMPOSITION

Les autorités sanitaires ont décidé dès janvier 2008 (début de l'épidémie due au sérotype 1) d'étendre le réseau sentinelle à l'ensemble des médecins du territoire. Cette décision a permis aux cliniciens du territoire de bénéficier pour leurs patients de la gratuité des examens de diagnostic biologique de la dengue (activité subventionnée par la DASS-NC à l'IPNC). Cette initiative s'est prolongée tout au long de l'année 2010 pour être en mesure de dépister un début de foyer épidémique. De plus, la présence de la fiche du réseau sentinelle dûment remplie par le prescripteur donne accès gratuitement aux examens biologiques.

1.2. MODE DE FONCTIONNEMENT

Le médecin: Face à un cas cliniquement suspect, le médecin sentinelle remplit une fiche de renseignements qu'il adresse à l'IPNC, et prescrit le bilan biologique en vue de la confirmation éventuelle du cas.

Le laboratoire : Les examens spécifiques sont pris en charge par la subvention de Santé Publique versée par la Nouvelle-Calédonie à l'Institut Pasteur. Les autres analyses, prescrites simultanément (numération-formule-plaquettes, par exemple), sont à la charge du patient et remboursables dans les conditions habituelles des régimes sociaux. Le choix des paramètres diagnostiques de la dengue est à l'initiative du laboratoire, en fonction de la date annoncée de début de la maladie.

La DASS-NC (Direction des Affaires Sanitaires et Sociales) : Quotidiennement, l'IPNC transmet à la DASS-NC les coordonnées des patients dont le diagnostic biologique est en faveur d'une dengue. La DASS-NC centralise les données et se charge d'informer les organismes de lutte anti-vectorielle des cas suspects (Service d'Inspection et de Prévention des Risques Environnementaux et Sanitaires [SIPRES] pour Nouméa, service technique de la commune pour les agglomérations hors Nouméa).

Les organismes de lutte anti-vectorielle s'occupent de la recherche de gîtes larvaires, ainsi que de la démoustication autour de l'habitation du cas suspect et effectuent tout au long de l'année de nombreuses actions de prévention sur la dengue.

Depuis octobre 2007, la lutte anti-vectorielle péri focale est réalisée devant chaque cas confirmé ou probable biologiquement. Un épandage à J1, J2 et J8 de deltaméthrine et/ou de malathion est faite sur 150 m autour de l'habitation.

2. TESTS DISPONIBLES

Plusieurs examens de laboratoire sont disponibles pour diagnostiquer la dengue : la mise en évidence de l'ARN du virus par RT-PCR et de l'antigène NS1 (marqueurs précoces) et la recherche des anticorps de type IgM dirigés contre le virus (marqueurs tardifs).

2.1. ANTIGENE NS1

L'antigène NS1 (*Non stuctural protein*) est une protéine du virus produite en excès lors de la réplication virale. Il peut persister dans le sérum des patients jusqu'au 9ème jour suivant l'apparition des premiers symptômes. L'antigène NS1 est détectable soit par technique ELISA (technique automatisée réalisée tous les jours à l'IPNC), soit par technique immunochromatographique (test rapide avec un résultat donné en 30'). La spécificité du test ELISA est proche de 100% et sa sensibilité avoisine les 90%. Cependant une sensibilité moindre a été observée avec le kit Biorad durant l'épidémie de 2008-2009, sans doute liée à la production d'IgG anti-NS1 lors d'une infection antérieure. Les tests rapides présentent une sensibilité moins élevée que le test ELISA et sont réservés uniquement aux demandes urgentes et ponctuelles pour des patients hospitalisés.

2.2. PCR DENGUE

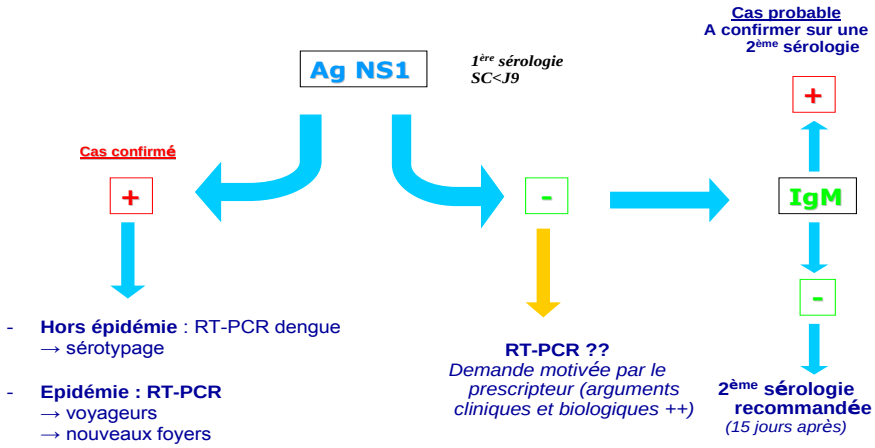
La détection de l'ARN viral est réalisée par la méthode RT-PCR, plus complexe, longue (8h) et coûteuse. Ce test est réalisé une à deux fois par mois à l'IPNC, sauf situation exceptionnelle. En Nouvelle-Calédonie, la PCR est utilisée pour la surveillance épidémiologique car elle, seule, permet d'identifier les sérotypes circulants et de détecter chaque année l'intrusion de nouveaux sérotypes chez des voyageurs (retour d'Asie du Sud- Est principalement).

2.3. IGM DENGUE

Les IgM spécifiques dirigés contre le virus sont détectables par méthode ELISA, quelques jours après l'apparition des symptômes. La sensibilité de ce test est de 95%, mais sa spécificité peut varier selon les coffrets utilisés. Un résultat positif isolé doit être interprété avec précaution, car des réactions croisées ont été observées dans des syndromes infectieux comme l'hépatite A, la leptospirose, le paludisme, le virus West Nile, etc…, ou encore lors d'activations polyclonales ou de pathologies auto-immunes. Une deuxième sérologie, après un intervalle de 15 jours, peut permettre de confirmer le diagnostic de dengue (séroconversion ou séro-ascension significative du taux d'IgM).

2.4. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE

Conformément à la demande des autorités sanitaires, le test NS1 a été mis en place de façon systématique sur l'ensemble des patients ayant une demande de diagnostic dengue, lorsque le délai entre l'apparition des signes cliniques et le prélèvement est inférieur à 9 jours.

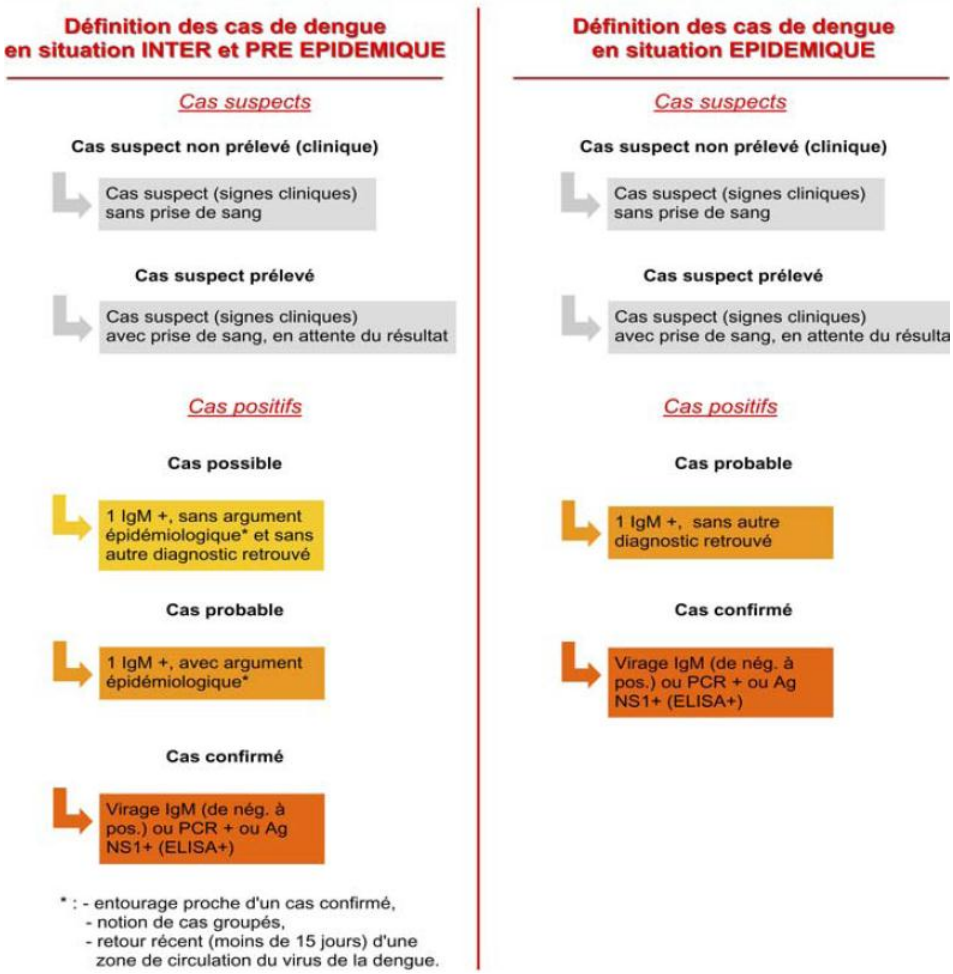


La recherche de l'antigène NS1 est réalisée quotidiennement (jours ouvrables) par le service de Virologie quelle que soit l'activité épidémique. La sérologie IgM est faite deux fois par semaine (hors épidémie) et tous les jours pendant les périodes épidémiques.

3. RESULTATS GLOBAUX DU LABORATOIRE

3.1. DEFINITION DES CAS DE DENGUE

Les notions de cas « possible, probable et confirmé » ont été établies sur des critères biologiques et épidémiologiques. Ne sont retenus comme cas positifs que les cas probables ou confirmés.



source DASS-NC 2010

3.2. DEMANDES TRAITEES PAR LE LABORATOIRE

	Nombre de demandes Réseau	Nombre de demandes Hors réseau	Nombre total de demandes	Examens positifs	Examens douteux
NS1 ELISA	633	899	1532	**25**	4
IgM ELISA	634	1155	1789	**81**	53
RT-PCR	11	33	44	**20**	

3.3. CAS DE DENGUE DIAGNOSTIQUES AU LABORATOIRE

L'IPNC est le seul laboratoire du Territoire qui dispose du panel complet des tests biologiques de diagnostic de la dengue (diagnostic directe et indirect). Il est aussi le laboratoire de référence de la Nouvelle-Calédonie. Cette position privilégiée permet de centraliser les déclarations pour une meilleure surveillance épidémiologique. En 2010, d'autres territoires comme Wallis et Futuna, ou le Vanuatu ont sollicité l'IPNC pour prendre en charge certains de leurs prélèvements, notamment pour la réalisation du sérotypage.

Origine	Nombre de Patients testés par le laboratoire			
	Total des demandes	**Cas de dengue**	**Cas probables**	**Cas confirmés**
Nouvelle-Calédonie	1783	**110**	85	25
Vanuatu	20	**5**	3	2
Wallis et Futuna	14	**0**	0	0

4. ANALYSE DES CAS DE DENGUE DE 2010

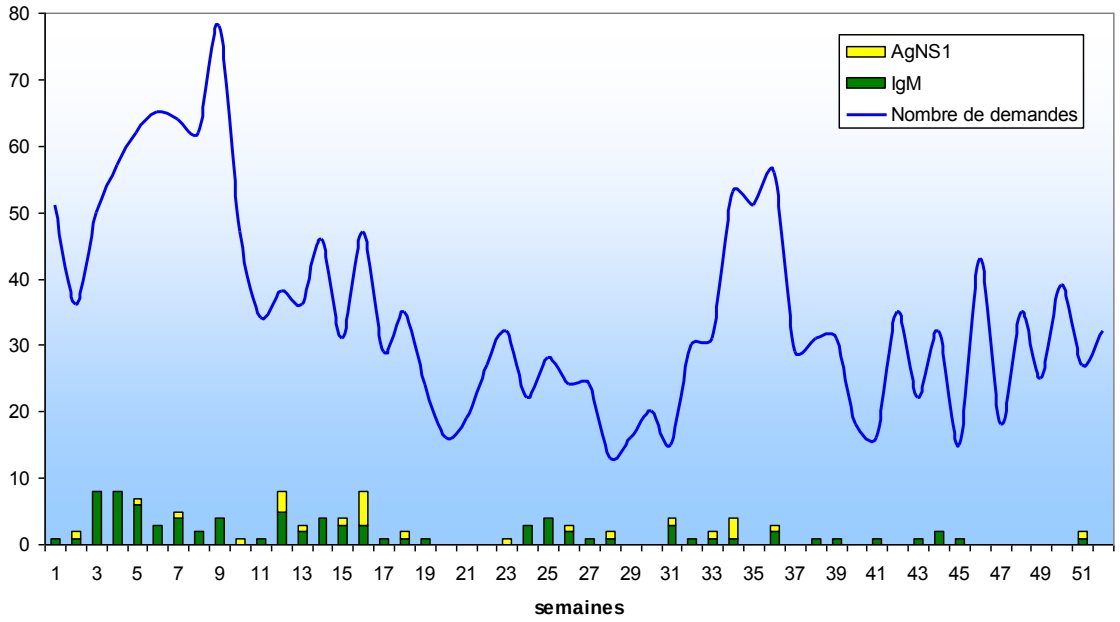
4.1. CARACTERISTIQUES ET EVOLUTION DES CAS

Au total, **110 cas de dengue** ont été diagnostiqués au laboratoire pour l'année 2010, **dont 25 confirmés et 85 probables**.

Ces résultats montrent l'intérêt de l'utilisation du test NS1 en première intention ; en effet, ce test présente de nombreux avantages :

- il couvre une période assez large, allant parfois du début des signes cliniques à 10 jours après, ceci permettant de diagnostiquer une grande majorité des patients,
- il couvre en grande partie la période de virémie, d'où son intérêt pour l'efficacité des actions d'épandage,
- il est facilement réalisable et peut être mis en œuvre pour un grand nombre d'échantillons en une série.

Evolution par semaine des cas positifs et des demandes



L'année 2010 se caractérise par un nombre faible de cas positifs contrairement aux deux années précédentes. Cette année, considérée comme non épidémique, se caractérise cependant par une constante circulation virale même en période fraîche. On peut noter une forte demande de la part des prescripteurs pendant le premier trimestre 2010, avec un peu plus de 70 demandes en semaine 9. Le premier semestre regroupe ainsi 84 cas, soit plus de 70% des cas de l'année. La mise en évidence de cas tout au long de l'année illustre l'évolution de la dengue sur un mode endémo-épidémique en Nouvelle-Calédonie.

4.2. ETUDE DES DIFFERENTS SEROTYPES CIRCULANT EN NOUVELLE-CALEDONIE

Pour chaque patient positif en Antigène NS1 un sérotypage par PCR a été réalisé. Durant l'année 2010, 15 cas ont été confirmés pour le sérotype DEN-1. A l'inverse, aucun cas de sérotype DEN-4 n'a été isolé. Le dernier virus DEN-1 isolé localement remonte au mois d'aout. Parfois, pour certains patients positifs ou douteux en AgNS1, aucune circulation virale ne peut être mise en évidence et correspond, soit à un faux positif, soit à un prélèvement trop tardif. Une deuxième sérologie réalisée à distance pourrait permettre de confirmer ou d'infirmer le diagnostic, mais le 2ème sérum est très rarement envoyé au laboratoire.

4.3. REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES CAS

Les cartes suivantes montrent la répartition des cas pour l'année 2010 sur le territoire et sur le grand Nouméa (figures 1 et 2).

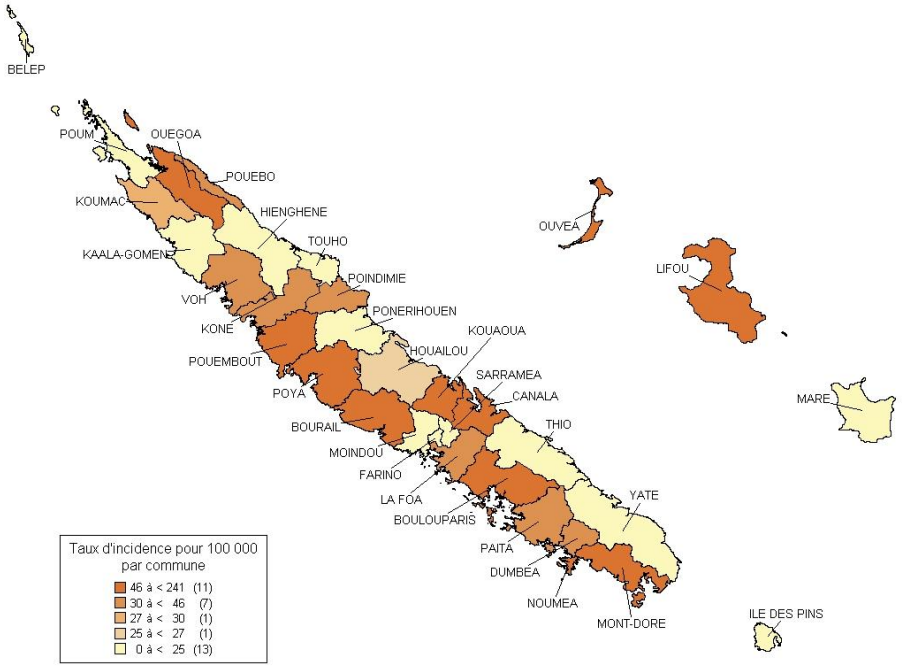


Figure 1 : Carte de répartition des cas de dengue en Nouvelle-Calédonie en 2010 (source DASS-NC)

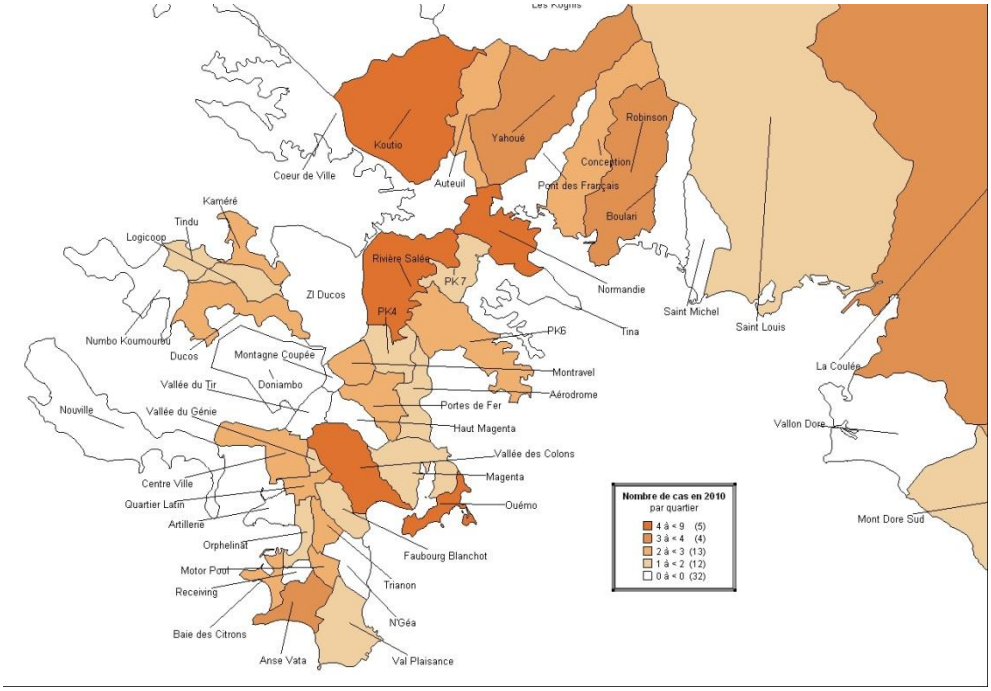


Figure 2 : Carte de répartition des cas de dengue dans le grand Nouméa en 2010 (source DASS-NC)

4.4. CAS D'IMPORTATION

Un sérotypage a été systématiquement réalisé chez les patients présentant un AgNS1 positif de retour de voyage. Les sérotype DEN-2 (en provenance d'Indonésie) on été retrouvés chez 2 patients, et une co-infection DEN-1 et DEN-4 a été retrouvée chez un patient revenant du Vietnam. D'autres patients de retour d'Asie ont eu une sérologie AgNS1 douteuse ou positive, mais l'ARN viral n'a pu être mis en évidence.

Cette multiplicité des cas et d'introduction de sérotypes différents montre le risque permanent auquel la Nouvelle-Calédonie est exposée, malgré les mesures de contrôle aux frontières. En effet, la non-détection de ces cas peut facilement permettre une implantation d'un nouveau sérotype sur le territoire, et par conséquent générer une épidémie.

4.5. ANALYSE GENETIQUE DES SOUCHES CIRCULANTES

Ce travail a été réalisé par le laboratoire d'épidémiologie moléculaire et en collaboration avec le laboratoire de virologie de l'Institut Louis Malardé (ILM) à Tahiti et le Centre Collaborateur OMS des Arbovirus en Australie, dans le cadre du programme de recherche sur l'épidémiologie moléculaire des virus de la Dengue (DEN-PACSUD). Une sélection de prélèvements confirmés en dengue DEN-1 ont été envoyés pour séquençage et comparaison avec les souches virales circulantes dans d'autres pays asiatiques ou du Pacifique à l'ILM. Les premiers résultats indiquent que les souches DENV-1 NC de 2010 proviennent bien de la même lignée que celle à l'origine de l'épidémie de 2008.

Conclusion

Cette année contraste avec les deux années précédentes marquées par des épidémies engendrées par les sérotypes 1 et 4. Cette situation peut être expliquée par une immunité acquise par la population contre ces deux sérotypes, et par un contexte météorologique de sécheresse, sous l'influence du phénomène « El Niño ».

Par contre, on assiste à une nouvelle situation avec la persistance du sérotype DEN-1 pendant plus de 2 ans. Des cas sporadiques ont été isolés tout au long de l'année et même en saison fraîche. Cette situation suggère fortement l'installation d'une situation endémo-épidémique sur le territoire.

Cependant, il est essentiel de rester vigilant à l'introduction d'un nouveau sérotype qui pourrait donner lieu à une nouvelle épidémie, comme ce fut le cas en 2009 avec le sérotype DEN-4.

Le poids économique de cette maladie et l'apparition soudaine possible de formes très graves doivent inciter à maintenir un système de surveillance performant.

SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE DES MOUSTIQUES VECTEURS DE LA DENGUE

Responsable
- Laurent GUILLAUMOT, entomologiste

Aide technicien
- Sosiasi KILAMA, aide technicien entomologiste

Collaborateurs IPNC
- Eric D'ORTENZIO, médecin épidémiologiste (depuis septembre 2010)
- Ann Claire GOURINAT, pharmacien biologiste
- Myrielle DUPONT, chercheur, virologiste

Partenaires locaux
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- Services de santé des Provinces
- Services communaux concernés
- Météo-France

Partenaires nationaux et internationaux :
- Institut Pasteur Paris (IPP)
- Secrétariat de la Communauté du Pacifique (CPS)
- Institut de Recherche pour le Développement (IRD)
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS)
- Centre for Disease Control (CDC)
- Queensland Institute of Medical Research (QIMR),
- Unités d'entomologie médicale du Réseau International des Instituts Pasteur
- Edward Grey Institute, Department of Zoology, University of Oxford
- Museum National d'Histoire Naturelle - Paris
- Liverpool School of Tropical Medecine
- University of New South Wales

Cofinancement
- Gouvernement de Nouvelle-Calédonie (ASS)

Introduction

Parmi les arthropodes vecteurs de maladies, les moustiques tiennent de très loin la première place dans le monde, du fait de la morbidité et de la mortalité des affections qu'ils transmettent, le seul paludisme étant responsable de centaines de milliers, voire de millions de décès chaque année. Epargnée par la plupart de ces fléaux majeurs, la Nouvelle-Calédonie subit néanmoins des épidémies de dengue dont la fréquence sinon l'intensité augmente chaque année. Le seul vecteur de cette arbovirose décrit localement est *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linné, 1762), moustique anthropophile aux mœurs diurnes présent dans la majorité des pays tropicaux du monde capable de transmettre également la fièvre jaune et le virus chikungunya.
Aucun traitement n'est disponible actuellement contre la dengue et les essais les plus favorables ne permettent pas de prévoir la mise sur le marché d'un vaccin avant 2015 ou 2016. Dans l'intervalle, seule la prévention faisant appel à la participation de la collectivité et la lutte anti-vectorielle permet de mettre un frein à la virulence des épidémies.
Dans ce contexte, la surveillance des moustiques vecteurs par le Laboratoire d'Entomologie Médicale de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) s'organise autour de trois types d'action :

- Surveillance des populations d'*Aedes aegypti* dans le cadre du Réseau de Surveillance Entomologique des vecteurs de la dengue (RSE).
- Suivi de la sensibilité aux insecticides des populations locales de ce vecteur.
- Surveillance entomologique aux environs immédiats des points d'entrée internationaux - Aéroport International de la Tontouta et ports de Nouméa recevant des navires en provenance de l'étranger – afin de détecter toute introduction d'espèce de moustique exogène.

Parallèlement à ces activités, le Laboratoire d'Entomologie Médicale de l'IPNC joue un rôle de conseil auprès des autorités sanitaires en matière de LAV, assume des fonctions de formation et procède à des essais de nouvelles stratégies de contrôle des moustiques.
Contrairement aux deux années précédentes, 2010 a été relativement calme du point de vue de la transmission de la dengue qui s'est manifestée essentiellement par une circulation faible quoique continue du sérotype DEN-1. L'épidémie de grande ampleur qui a sévi en 2009 n'a pas ressurgi avec l'intensité redoutée en début d'année, et le sérotype DEN-4 majoritaire, l'an passé, n'a pas été retrouvé.

1. LE RESEAU DE SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE DES VECTEURS DE LA DENGUE

Le RSE a débuté ses activités en 1997 à l'initiative de l'IPNC, la DASS-NC et des municipalités de Nouméa et du Mont- Dore, rejointes par Dumbéa en 2006.

1.1. FONCTIONNEMENT DU RSE EN 2010

1.1.1. OBJECTIFS

Les objectifs du réseau sont multiples :

- Suivre l'évolution spatio-temporelle en termes de densité vectorielle des populations d'*Aedes aegypti*, afin d'être en mesure de donner l'alerte épidémique ;
- Contrôler la structure des populations de moustiques retrouvés dans les zones habitées et vérifier par là-même l'absence d'espèces nouvellement introduites ;
- Evaluer l'impact des actions de prévention et de lutte anti vectorielle menées par la collectivit ;
- Récolter du matériel biologique destiné d'une part à la poursuite de recherches sur le mode de propagation de la maladie et d'autre part à la réalisation de tests de sensibilité aux insecticides.

1.1.2. SECTEURS SURVEILLES

Un total de 5 secteurs, dont 3 à Nouméa, un au Mont-Dore et un à Dumbéa sont surveillés. Ils sont constitués d'ensembles de maisons individuelles homogènes et représentatifs d'un certain type d'habitat. Ces maisons sont regroupées en « grappes » de 15 à 35 environ.

Nouméa Ouest : (2600 maisons recensées) : Rivière-Salée, Ducos (rue de Papeete), Logicoop, Vallée du Tir, Doniambo, Kaméré, Tindu, Montravel, Normandie.

Nouméa Est : (2463 maisons recensées) : Ouémo, Magenta, Haut-Magenta, Magenta-Aérodrome, Portes de Fer, 4ème Km, 6ème Km, 7ème Km, Vallée des Colons.

Nouméa Sud : (1545 maisons recensées) : Faubourg Blanchot, N'Géa, Trianon, Orphelinat, Val Plaisance, Motor-Pool, Anse-Vata.

Mont-Dore : (1508 maisons recensées) : Robinson, Saint-Michel et Yahoué.

Dumbéa : (2214 maisons recensées) : Koutio, Auteuil, Tonghoué, Katiramona.
Soit un total de 10330 maisons.

1.1.3. MODE OPERATOIRE

Chaque mois, une centaine de maisons sont tirées au sort dans chacun des secteurs indiqués ci-dessus et visitées par les enquêteurs du RSE, qui procèdent à une recherche des gîtes larvaires et au comptage des larves au stade 4 et nymphes d'Aedes aegypti. Des échantillons sont récoltés pour confirmation d'identification au laboratoire et les données sont consignées sur une feuille de terrain. Les maisons visitées ne sont remises dans la base de tirage qu'après 3 mois, afin d'éviter à la fois la lassitude des habitants et un biais lié à un passage trop fréquent des enquêteurs qui éliminent à chaque fois les gîtes rencontrés.

Par ailleurs, des Pondoirs Pièges Collants (PPC) sont mis en place dans les secteurs de Nouméa, à raison d'un par groupe de maisons visitées. Ces pièges destinés à la capture des femelles *Aedes* à la recherche d'un gîte de ponte.

En plus de ces actions directement liées aux objectifs de départ du réseau, les agents, par leur présence et par les informations qu'ils peuvent apporter contribuent à la sensibilisation et à la responsabilisation des habitants.

1.1.4. INDICES ENTOMOLOGIQUES

Les données récoltées sont consignées sur des fiches de travail en vue du calcul des indices entomologiques suivants.

- **Indice « Maisons »** (IM) = $\frac{\text{nbre de maisons avec au moins 1 gîte avec } \textit{Ae. aegypti} \times 100}{\text{nombre de maisons visitées}}$

Cet indice est un bon indicateur du comportement de la population vis-à-vis du vecteur.

- **Indice de Breteau pondéré** (IB pond.) = $\frac{\text{nbre de gîtes à } \textit{Ae. aegypti} \text{ pondérés} \times 100}{\text{nombre de maisons visitées}}$

L'Indice de Breteau, faisant partie comme l'IM des indices officiels utilisés par l'OMS, est ici pondéré en fonction du nombre de vecteurs immatures dénombrés.

- **Indice Nymphes par Maison** (INM) = $\frac{\text{nbre de nymphes d'} \textit{Ae. aegypti}}{\text{nombre de maisons visitées}}$

Cet indice remplace l'Indice de Productivité d'Adultes à Nouméa. Il présente l'avantage de donner une meilleure idée de la densité vectorielle réelle, en ne prenant en compte que les nymphes qui évoluent en 2 ou 3 jours au lieu d'un temps variable selon divers paramètres pour ce qui est des larves.

- **Indice de Productivité d'Adultes** (IPA) = nbre d'*Ae. aegypti* en fin de stade pré imaginal / nombre de maisons visitées

Cet indice reflète la densité vectorielle proprement dite. Il est présenté pour le Mont-Dore et Dumbéa en attendant que la collecte des données nécessaires au calcul de l'INM soit mise en place dans ces deux communes.

- **Indice « Pondoirs Pièges Collants »** (IPPC) = nbre de femelles *Ae. aegypti* collées x10 / nombre de pièges posés

Cet indice donne des indications sur la présence du vecteur au stade où se fait la transmission des virus (femelle adulte).

Tous les mois, un rapport donnant la valeur des principaux indices et leur évolution dans le temps est envoyé aux partenaires concernés.
De même, les résultats du Réseau de Surveillance Entomologique sont publiés chaque mois dans la presse écrite et radiodiffusée.

1.2. RESULTATS DU RSE EN 2010

1.2.1. LES INDICES PAR SECTEURS

Tableau 1

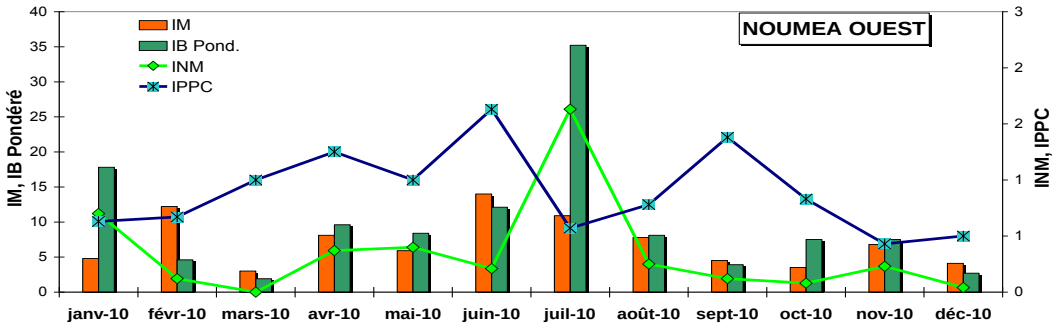


Tableau 2

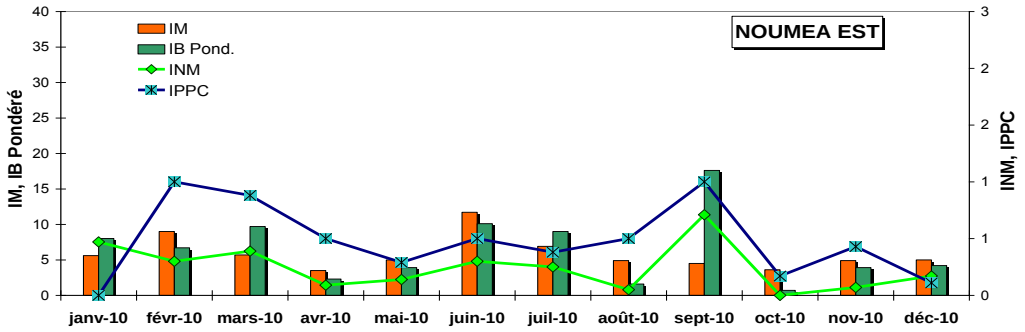


Tableau 3

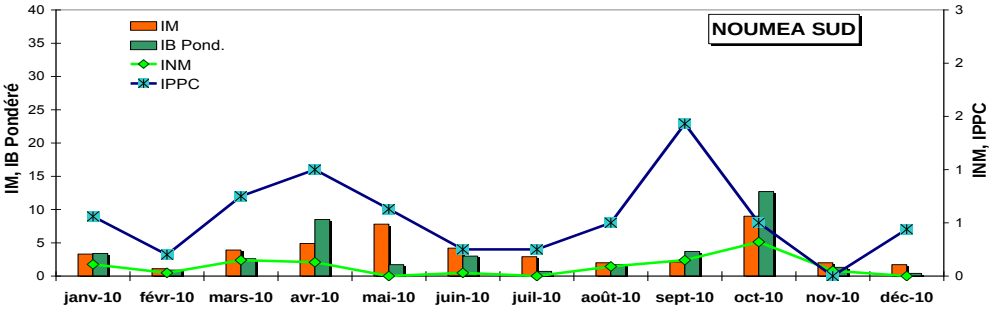


Tableau 4

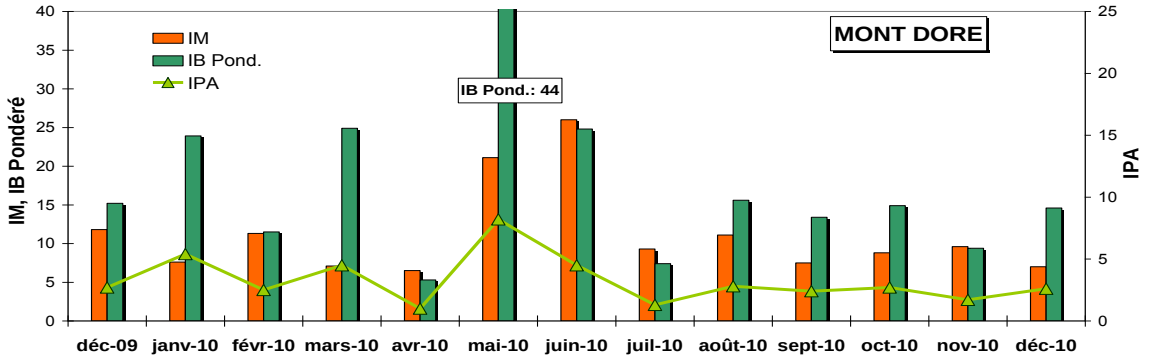


Tableau 5

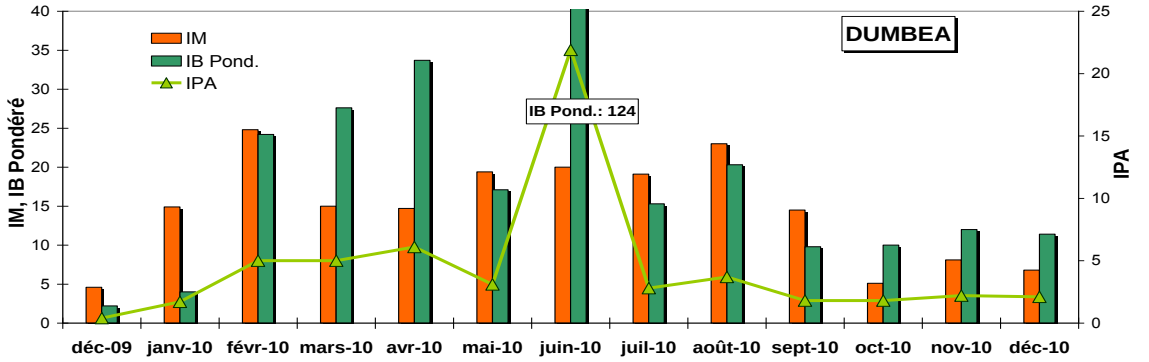
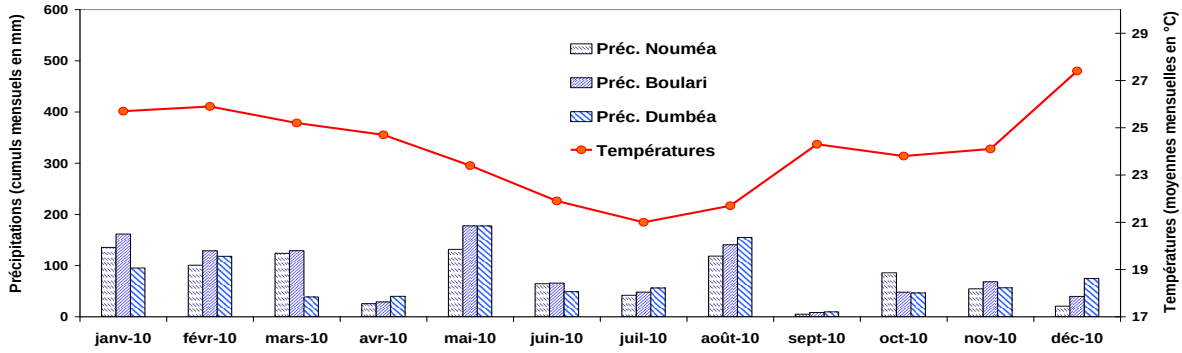


Tableau 6 : Températures et précipitations à Nouméa, Boulari et Dumbéa en 2010 (Source : Météo France).

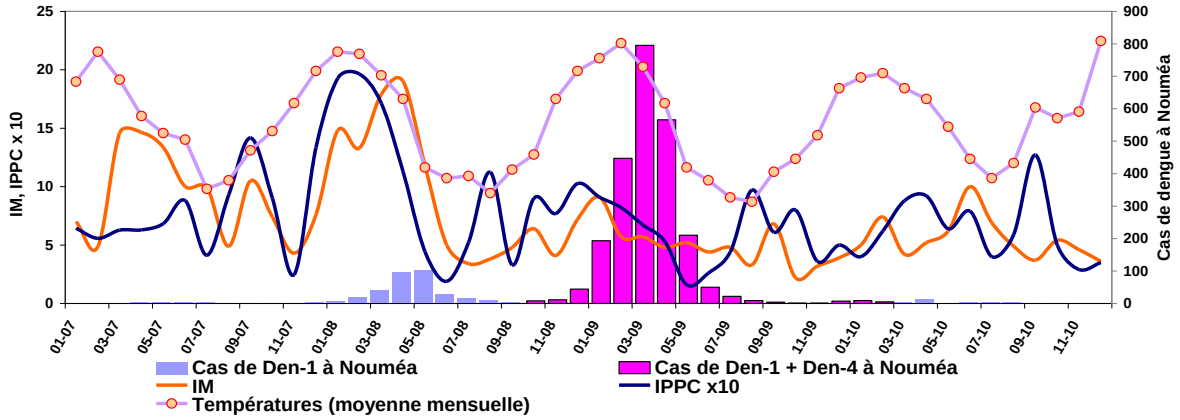


Les indices entomologiques affichent des valeurs modérées à Nouméa, mais nettement plus hautes dans les communes périphériques, avec des épisodes alarmants, en particulier à Dumbéa en juin. Il semble clair que les précipitations en hausse au mois de mai ont eu un impact sur les indices larvaires pour le mois en cours et les suivants dans les secteurs du Mont-Dore, de Dumbéa et de Nouméa Ouest.
L'évolution de ces indices a subi deux influences contradictoires : d'une part l'absence de situation épidémique qui a favorisé la démobilisation de la population vis-à-vis de la lutte contre les gîtes larvaires, et d'autre part le faible niveau des précipitations lié au phénomène El Niño, défavorable à la pullulation du vecteur.
On remarque la faiblesse des températures enregistrées, la moyenne mensuelle restant en deçà de 26°C durant toute la première partie de l'année. Cette fraîcheur relative a probablement fortement contribué à empêcher la reprise de l'épidémie.
Il convient de noter également le sursaut généralisé de l'IPPC en septembre dans tous les secteurs de Nouméa. Il s'agit vraisemblablement plus d'un effet de la raréfaction des gîtes spontanés causée par l'absence de précipitations que d'une réelle augmentation de la densité du vecteur ; les femelles *Ae. aegypti* à la recherche

d'un gîte de ponte ne trouvant que les pièges. Si cette hypothèse qui demande à être confirmée est juste, il s'agit d'un biais dont il faut tenir compte dans l'interprétation de cet indice.

1.2.2. EVOLUTION DES INDICES ET EPIDEMIES DE DENGUE

Tableau 7 : Evolution temporelle des indices entomologiques et cas de dengue à Nouméa de janvier 2007 à Décembre 2010



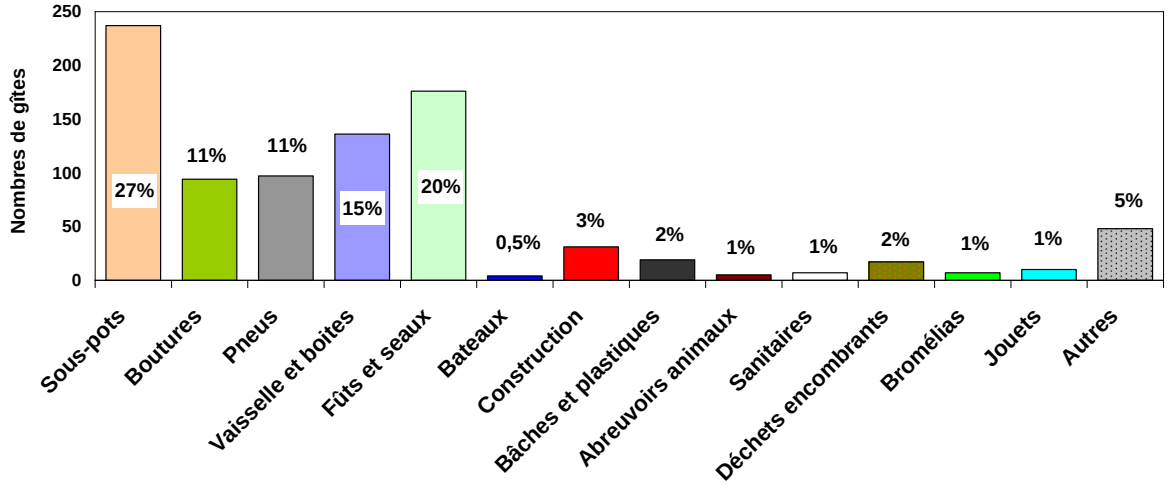
La corrélation entre l'IM et l'IPPC, quoiqu'apparente sur le tableau 7, n'est pas très bonne (r=0.60), ce qui justifie le calcul d'indices variés qui donnent des renseignements différents.

Rappelons la contradiction apparente entre l'année 2008, qui a vu une épidémie modérée avec des indices entomologiques moyens, et 2009 où des indices entomologiques plus faibles sont associés à une morbidité beaucoup plus forte. Les explications sont d'une part l'introduction à la fin 2008 d'un nouveau sérotype (DEN-4), mais aussi une augmentation plus précoce de l'activité des vecteurs (remontée des indices entomologiques) correspondant à la hausse de la température à la même période.

L'absence de reprise de l'épidémie début 2010 peut être mise en perspective avec des indices entomologiques faibles, des conditions météorologiques caractérisées par un début d'année relativement frais, un écart de température moyenne mensuelle de 1,4°C entre février 2009 et février 2010 et l'immunité acquise par la population suite aux 2 épidémies de 2008 et 2009.

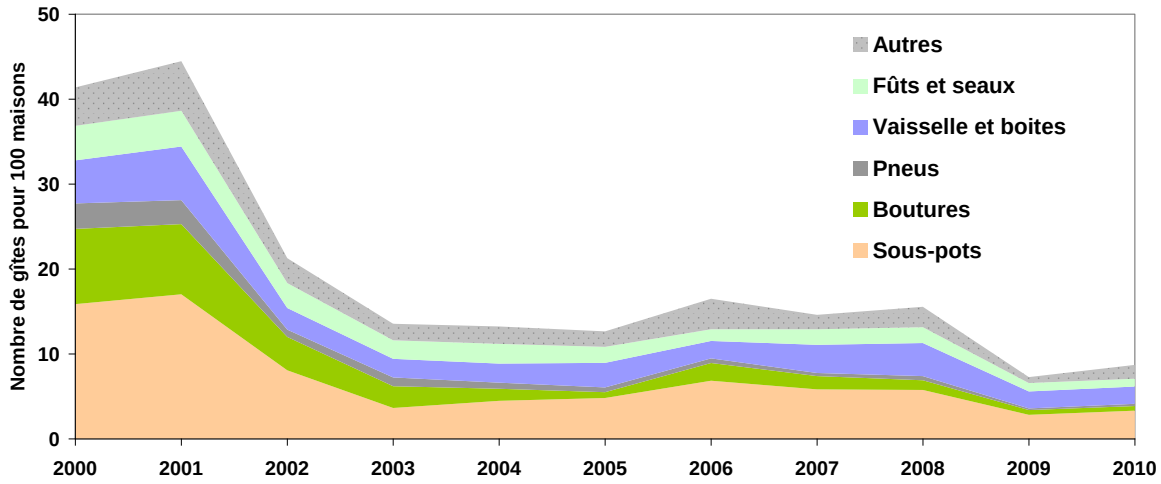
1.2.3. TYPES DE GITES ET EVOLUTION

Tableau 8 : Répartition des gîtes positifs Ae. aegypti, dans les 3 communes en 2010



L'essentiel des gîtes positifs est toujours constitué par les récipients liés aux activités de jardinage : sous-pots et seaux à boutures. Ces derniers, très productifs, doivent rester au centre du message. On voit réapparaître des pneus, qui ne constituaient que 6% des gîtes en 2009 et qui représentent en 2010 11% du total. C'est surtout dans les communes périphériques que cette tendance se fait sentir, là où les habitants ont tendance à réaliser eux-mêmes leurs travaux de mécanique. De même que les boutures et les pneus, les gîtes liés à la construction (gouttières, fosses septiques inachevées, piscines ou bassins hors service…) hébergent la plupart du temps de grandes quantités de vecteurs immatures.

Tableau 9 : Evolution du nombre de gîtes pour 100 maisons par types de 2000 à 2010 à Nouméa



La ligne supérieure du tableau 9 représente le cumul des nombres de gîtes par type pour cent maisons visitées pendant douze mois à Nouméa et donne ainsi un Indice de Breteau moyen pour l'année considérée.

Sont à noter la réduction du nombre de sous-pots entre 2000 et 2003, et des pneus au fil des ans. Ce type de gîte est devenu rare à Nouméa, tandis qu'il et couramment rencontré dans les communes périphériques, et plus encore hors agglomération. Une stratégie de communication adaptée aux zones rurales et péri-urbaines devrait faire l'objet d'une réflexion.

Ce tableau illustre remarquablement les effets positifs des actions de prévention contre le vecteur de la dengue menées par la collectivité. Mais il met également en évidence la légère reprise des indices en 2010, qu'il était déjà possible d'apprécier sur le tableau 7. Ceci montre à quel point la prévention de la dengue devient précaire en année non épidémique et a tendance à passer au second plan pour les citoyens, sinon pour les pouvoirs publics. Ces observations concordent avec des remarques faites dans de nombreux autres pays.

2. SUIVI DE LA RESISTANCE AUX INSECTICIDES

L'apparition de résistances aux insecticides a été une cause d'échec pour un nombre considérable de programme de lutte contre des maladies à transmission vectorielle. Pourtant, ce phénomène n'est rien d'autre que le résultat de l'adaptation évolutive de populations animales à des conditions adverses, autant dire une situation tout à fait prévisible.
Dans le cas de la lutte contre le moustique *Aedes aegypti* en Nouvelle-Calédonie, il a fallu attendre 2003 pour qu'un tel phénomène devienne notable. Le produit vis-à-vis duquel une perte de sensibilité a été observée est la deltaméthrine, un insecticide de la classe des pyréthrinoïdes utilisé depuis 1989 non seulement dans le cadre de la santé publique, mais aussi pour lutter contre les nuisances, et par les particuliers comme insecticide de jardin. Cette molécule est proche chimiquement de la plupart des produits à usage domestique disponibles sur le marché.

Depuis lors, l'évolution de cette résistance fait l'objet d'un suivi régulier au Laboratoire d'Entomologie Médicale de l'IPNC par le biais de tests conduits régulièrement selon le protocole et avec du matériel et des produits de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Les moustiques testés sont principalement des *Aedes aegypti* issus de populations collectées sur le terrain (F0) aux stades immatures, généralement dans le cadre des enquêtes du RSE. Pour avoir une vision élargie des phénomènes à l'oeuvre, des moustiques appartenant à l'espèce *Culex quinquefasciatus* sont également testés. Les insectes sont élevés à l'insectarium et reproduits afin d'obtenir un nombre de spécimens suffisant (F1 ou F2) pour la réalisation des tests, soit environ 300 à 400 individus. Chaque population est si possible issue d'un seul gîte larvaire. En 2010 on été testés 8 populations d'*Aedes aegypti* provenant du Grand Nouméa, et 2 populations de *Culex quinquefasciatus*. Pour des raisons de logistique, il n'a pas été possible de réaliser des tests avec des moustiques provenant des zones rurales ou des Iles Loyauté.

Les tests sont réalisés à l'aide de la méthode des papiers imprégnés. Les papiers fournis par l'OMS sont imprégnés d'une solution d'insecticide à une concentration provoquant sur une souche sensible d'*Aedes aegypti* 100% de mortalité après un temps de contact d'une heure. Toutefois, les résultats de tests antérieurs nous ont suggéré la possibilité d'exposer les insectes pendant 50 mn seulement, sauf cas particuliers.

2.1. SENSIBILITE DES MOUSTIQUES A LA DELTAMETHRINE EN 2010

Tableau 10a.

Population testée		*Aedes aegypti*				
		Nouméa Fbg Blanchot	Dumbéa	Dumbéa	Nouméa Tindu	Nouméa Rivière Salée
Date de capture		14/04/10	04/05/10	10/06/10	28/04/10	07/07/10
Type de gîte		Jouet enfant	Boutures	Boutures	Sous-pots	Pneus
Mortalité en fonction du temps de contact	35 mn					
	50 mn	**73%**	**95%**	**100%**	**59%**	**79%**
	60 mn					**94%**

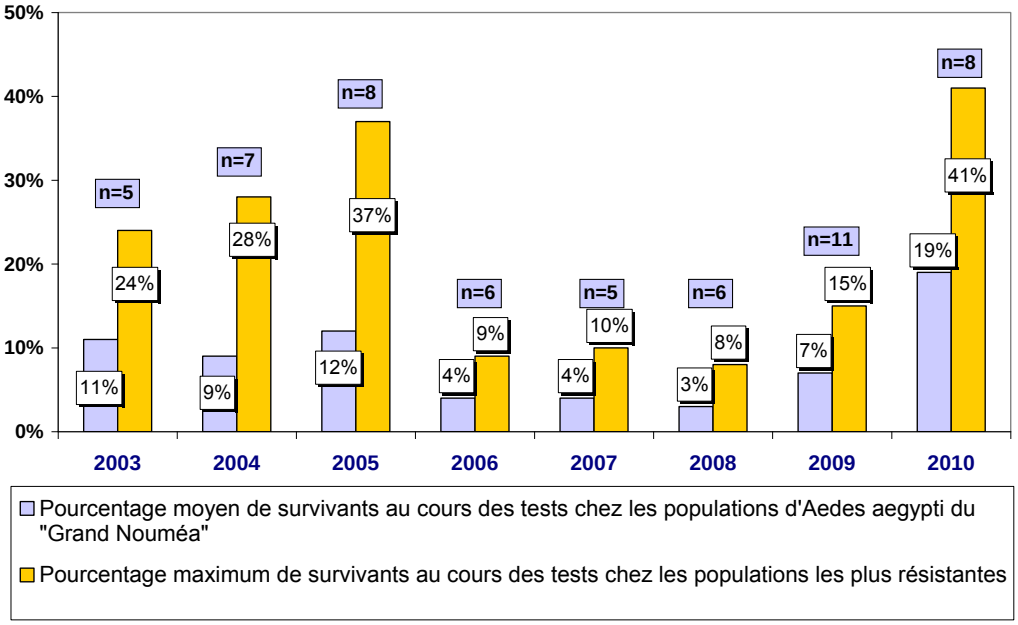
Tableau 10b.

Population testée		*Aedes aegypti*			*Culex quinquefasciatus*	
		Dumbéa Koutio	Nouméa Anse Vata	MontDore Robinson	Dumbéa	Tontouta
Date de capture		19/10/10	27/10/10	10/11/10	25/08/10	24/08/10
Type de gîte		Boutures	Boutures	Fontaine	Caniveau	Caniveau c/o pompiers
Mortalité en fonction du temps de contact	35 mn					
	50 mn	**61%**	**92%**	**91%**	**44%**	**60%**
	60 mn	**84%**				

Les tableaux 10a et 10b représentent les mortalités obtenues pour les populations *d'Aedes aegypti* et de Culex quinquefasciatus testées en 2010 vis-à-vis de la deltaméthrine. La mortalité est satisfaisante pour une seule population *d'Aedes aegypti*. On observe une diminution très nette de la sensibilité par rapport aux années précédentes, avec à Tindu 59% de mortalité seulement. Les 2 populations de Culex *quinquefasciatus* montrent une résistance plus forte encore.

2.2. EVOLUTION DE LA RESISTANCE AUX INSECTICIDES

Tableau 11 – Evolution de la résistance d'Aedes aegypti à la deltaméthrine dans le « Grand Nouméa » de 2003 à 2010.



Le tableau 11 ne fait état que des populations de moustiques collectées dans les communes où de la résistance a été détectée, soit Nouméa, le Mont Dore, Dumbéa et Païta. Les cadres « n » donnent le nombre de populations de ces zones testées durant l'année considérée.
A partir de 2003, la pratique des épandages systématiques contre les moustiques nuisants a été proscrite. En 2005, l'usage de la deltaméthrine pour les opérations liées à la santé publique est suspendu. Le produit est remplacé par le malathion, un organophosphoré et le niveau de résistance décroît nettement malgré un maintien de l'usage de pyréthrinoïdes par les particuliers. Cependant, l'ampleur de l'épidémie due au virus DEN-4 dès le début 2009 conduit à utiliser de nouveau la deltaméthrine plus facile d'emploi. Le retour de la pression insecticide se traduit aussitôt par un accroissement de la résistance qui continue à s'intensifier en 2010 alors même que, l'épidémie ayant cessé, la deltaméthrine n'est plus employée que sporadiquement par les services municipaux.

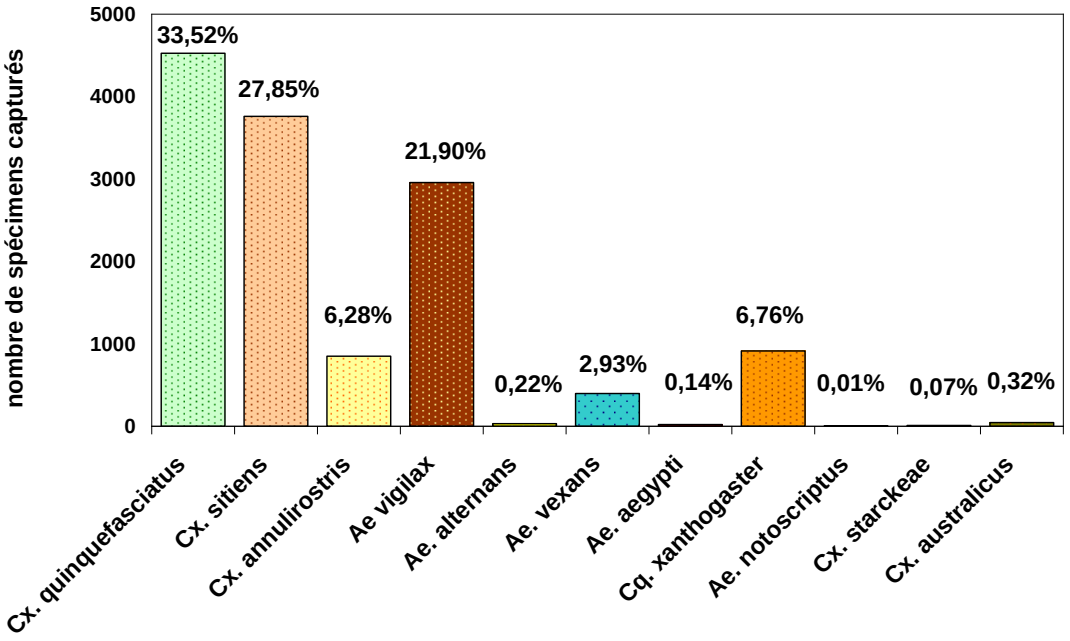
3. SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE AUX FRONTIERES

La faune des culicidés de Nouvelle-Calédonie compte actuellement 19 espèces connues et au moins 3 « formes » non décrites, soit un minimum de 22 espèces parmi lesquelles seul *Aedes aegypti* transmet régulièrement une maladie à transmission vectorielle, la dengue. Le détail de ces espèces peut être consulté sur le site internet de l'IPNC à la page suivante :
http://www.institutpasteur.nc/spip.php?article160 (bas de la page)
Aucune introduction d'espèce exogène n'a eu lieu depuis au moins une cinquantaine d'années (cf. inventaire de Jean Rageau 1958).
En particulier, on note l'absence de moustiques du genre *Anopheles*, parmi lesquels se trouvent les vecteurs du paludisme, ainsi que des vecteurs des virus de la dengue et du chikungunya *Aedes albopictus* et *Aedes polynesiensis*, ce dernier étant également un vecteur particulièrement efficace de la filariose lymphatique.
Cependant, l'augmentation en fréquence et en volume des voyages et des échanges internationaux met toujours plus en péril cette situation privilégiée et les lieux où des navires ou aéronefs en provenance de l'étranger sont susceptibles de toucher le territoire, c'est-à-dire les ports et aéroports internationaux, constituent les points d'entrée les plus probables pour des espèces exogènes potentiellement dangereuses.
Par ailleurs, le Règlement Sanitaire International (RSI) stipule que ces mêmes ports et aéroports doivent rester « exempts […] de moustiques vecteurs de maladies revêtant une importance épidémiologique pour le trafic international ».
Pour ces raisons, une surveillance entomologique est mise en œuvre d'une façon continue afin de détecter toute introduction de moustiques en provenance de l'étranger, et de vérifier l'absence d'*Aedes aegypti* à proximité des points d'embarquement.

3.1. SURVEILLANCE DE L'AEROPORT INTERNATIONAL DE LA TONTOUTA

L'Aéroport International fait l'objet d'une surveillance une semaine sur deux. Dans le cadre de ces missions sont mis en œuvre 6 pièges lumineux à dégagement de CO_2, et trois séances de captures sur appât humain sont réalisées. De plus, des prélèvements ont lieu en présence de gîtes potentiels.
Un total de 25 missions a été réalisé en 2010, au cours desquelles ont été capturés et identifiés 13 501 moustiques adultes. L'année ayant été particulièrement sèche, seules 385 formes de culicidés immatures ont été collectées et identifiées.

Tableau 12 Répartition par espèces des culicidés adultes capturés à Tontouta en 2010



Hormis le moustique des eaux usées *Culex quinquefasciatus* qui prolifère dans les caniveaux, fosse septiques et en général dans des gîtes relativement indépendant des précipitations, les espèces prépondérantes sont les moustiques d'eau salée ou saumâtre (*Culex sitiens, Aedes vigilax*). En revanche, les espèces inféodées à des collections d'eau douce pluviale (*Aedes vexans, Culex annulirostris*) sont en net recul par rapport aux années précédentes.
Les captures larvaires ont révélé la présence de 371 *Culex quinquefasiatus* et 14 *Culex annulirostris.*

Tableau 13 : Evolution des captures de moustiques adultes à Tontouta en 2010 en fonction des précipitations et des températures.

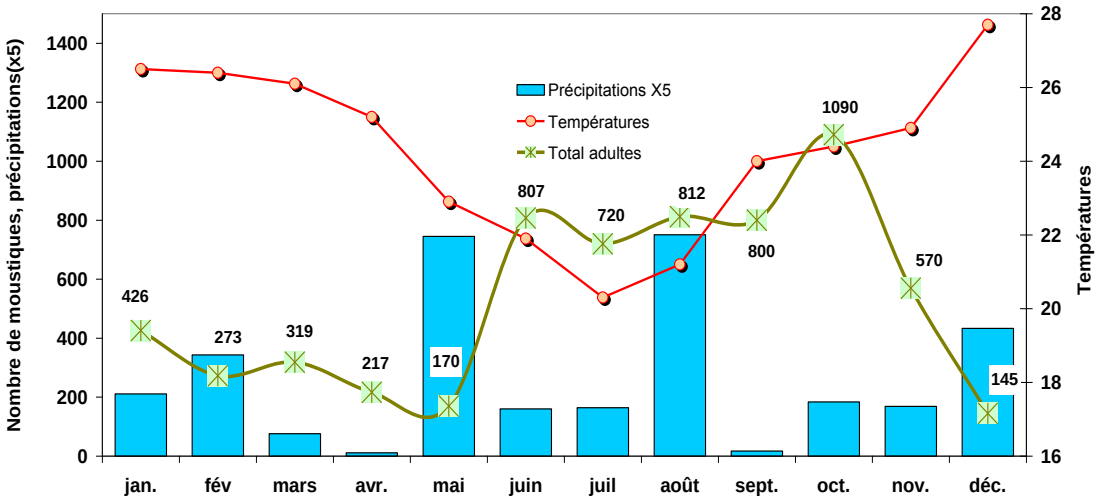
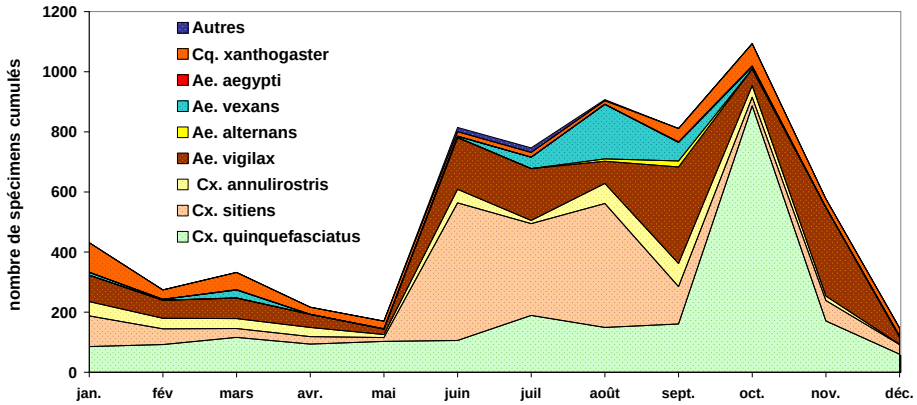


Tableau 14 : Evolution des captures de moustiques par espèce et par mois à Tontouta en 2010.



Sur le tableau 13, la valeur indique le nombre de spécimens capturés en moyenne par mission pour le mois considéré.
Ces tableaux mettent en évidence un pic de pullulation en juin constitué principalement de *Culex sitiens*, moustique retrouvé dans la partie supérieure de la mangrove ainsi qu'*Aedes vigilax*, dans des dépressions mises en eau par les marées de vives eaux, mais pouvant l'être aussi par des précipitations telles que celles qui ont eu lieu en mai. Le pic du mois d'août, outre les espèces déjà mentionnées, fait apparaître une augmentation d'*Aedes vexans*, moustique de prairies inondées. Le pic important du mois d'octobre est à notre avis lié à des perturbations dans l'écoulement de certains caniveaux provoquées apparemment par les travaux du nouvel aéroport. Ces perturbations ont profité essentiellement au moustique le plus souvent retrouvé dans cet environnement : *Culex quinquefasciatus*.

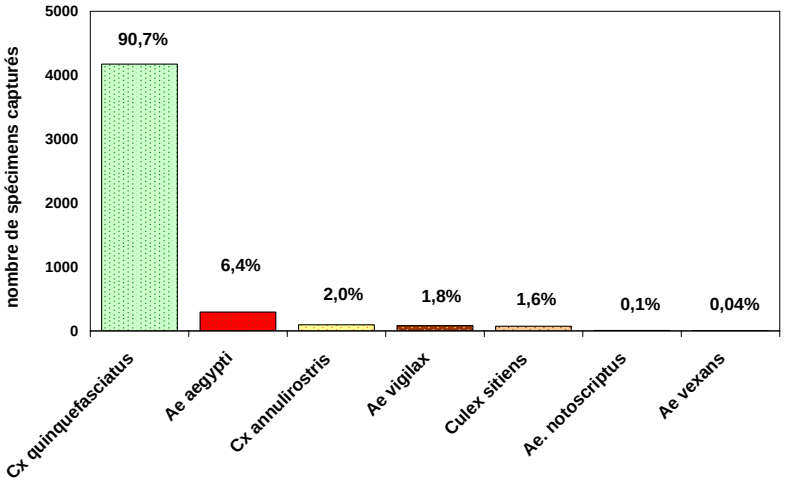
Aucune introduction d'espèce exogène n'est à signaler.

3.2. SURVEILLANCE DES ZONES PORTUAIRES DE NOUMEA

Six zones portuaires de Nouméa susceptibles de recevoir des navires en provenance de l'étranger sont surveillées en continu sur un rythme hebdomadaire.
- Le port des carburants de Numbo (Sté Mobil).
- Le port de la cimenterie Holcim à Numbo.
- Le port de la Société Le Nickel.
- Le Port Autonome de la Nouvelle-Calédonie.
- La marina de Port Moselle (Sté SODEMO).
- La base Navale de la Pointe Chaleix.

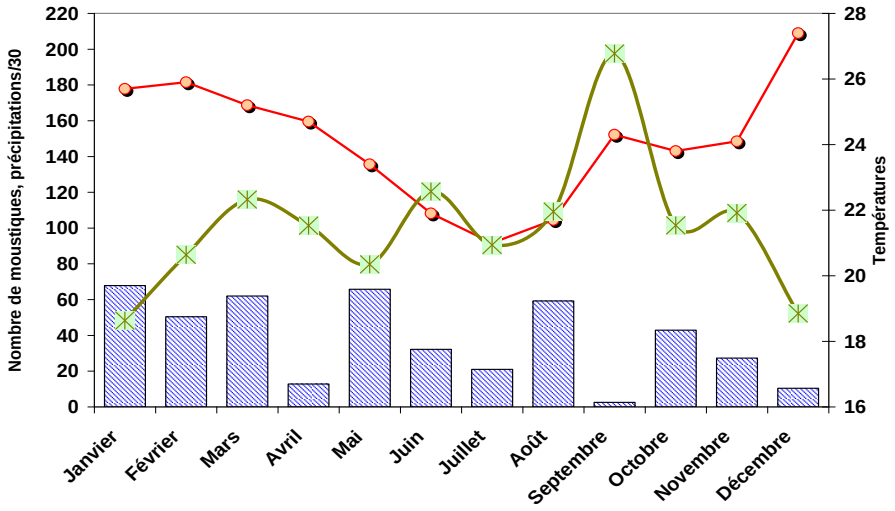
Dans l'ensemble de ces zones, des pièges pondoirs collants (PPC) destinés à la capture et au repérage des moustiques du genre *Aedes* restent en place en permanence et sont contrôlés chaque semaine. De plus, des pièges lumineux à dégagement de CO_2, visant plus particulièrement les espèces nocturnes comme celles appartenant au genre *Anopheles*, sont mis en place durant une nuit chaque semaine dans les zones 1, 3, 4 et 5. Les zones 2 et 6, dont l'activité internationale est épisodique, font l'objet de la mise en œuvre de ce type de piège au cours des 3 semaines suivant l'arrivée d'un navire à risque.
En 2010, 2865 moustiques adultes ont été capturés dans les pièges lumineux, et 1739 dans les PPC, soit un total de 4604 moustiques.

Tableau 15 : Répartition par espèces des culicidés adultes capturés dans les zones portuaires de Nouméa en 2010.



De même que les années précédentes, *Culex quinquefasciatus* représente environ 90% des captures. Une grande partie de ces moustiques provient de la SLN et du Port autonome où des dysfonctionnements dans les systèmes d'écoulement des eaux semblent récurrents.
Aedes aegypti vient au deuxième rang en nombre de captures. Une part importante de ces moustiques provient des alentours du port de la Sté Holcim, qui jouxte des entreprises dont les activités sont susceptibles de générer des gîtes à *Aedes aegypti*.
De même qu'à l'Aéroport International, on ne signale la présence d'aucune espèce nouvelle.

Tableau 16



Sur le tableau 16, les valeurs indiquent le nombre de culicidés adultes capturés en moyenne par semaine pour le mois considéré. Il s'agit principalement de *Culex quinquefasciatus* et il est normal que le volume des captures soit indépendant des précipitations compte tenu du type de gîte fréquenté par cette espèce.

Conclusion

Il semble qu'en 2010, la conjonction de conditions météorologiques défavorables à la transmission du virus, et d'une densité vectorielle faible ait permis d'éviter une reprise de l'épidémie. Mais cette victoire pourrait être de courte durée. Déjà au début de l'année 2011, le retour du phénomène « La Niña » entraînant des conditions chaudes et humides est un facteur de risque épidémique. Et pourtant, le maintien de la mobilisation de la collectivité autour de la destruction des gîtes larvaires s'avère fragilisé par une année sans dengue.
De plus, la panoplie des insecticides à la fois efficaces, acceptables pour l'homme et l'environnement, faciles d'emploi et bon marché se réduit dramatiquement du fait de l'augmentation de la résistance et de l'absence de molécules nouvelles.
Un gros effort de communication soutenu dans le temps sera nécessaire pour éviter de nouvelles épidémies comme celle de 2003 ou 2009.

REGISTRE DU CANCER DE NOUVELLE-CALEDONIE

Responsables

- Suzanne CHANTEAU, directrice IPNC, de janvier à mars 2010
- Sylvie LAUMOND-BARNY, médecin épidémiologiste de la DASS-NC, à compter d'avril 2010

Collaborateurs IPNC

- Elodie MAGNAT, Épidémiologiste (VCAT, puis CDD 3 mois)
- Rachèl DAMBREVILLE, Secrétaire médicale

Financement

- Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie (ASS)

L'année 2010 a été une année de transition déterminante pour le registre du cancer de Nouvelle-Calédonie. L'épidémiologiste en titre, Mme F. BAUMANN ne faisant plus partie du personnel de l'IPNC depuis le mois de mars 2010, le registre a fonctionné à minima de janvier à mars 2010, sous la supervision de la directrice de l'IPNC.

A compter du mois d'avril 2010, il a été placé sous la supervision du Dr Sylvie LAUMOND-BARNY, médecin épidémiologiste de la DASS-NC, à temps partiel.

La convention entre l'IPNC et le Gouvernement pour la gestion du RC a été dénoncée en août 2010. Le transfert officiel du registre à la DASS-NC est effectif depuis le 1er janvier 2011.

Le bilan des activités 2010 du registre a été exposé devant le comité du registre par le Dr S. LAUMOND-BARNY et Elodie MAGNAT, le 17 décembre 2010. Ces activités sont détaillées dans le compte-rendu de réunion, disponible sur demande à la DASS- NC (Dr Jean-Paul GRANGEON, chef du service des actions sanitaires).

ACTIVITES DE RECHERCHE

ACTIVITES DE RECHERCHE 87
LE CONSEIL SCIENTIFIQUE 88
LABORATOIRE DE RECHERCHE EN BACTERIOLOGIE 89
LEPTOSPIRES ET LEPTOSPIROSES 89
ETUDES SUR LES VIBRIO PATHOGENES DES CREVETTES D'ELEVAGE : COLLABORATION AVEC L'IFREMER 95
LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE 97
LA DENGUE 97
LES INFECTIONS RESPIRATOIRES ET PNEUMOCOQUES 100
BIO-PROSPECTION ET BIODIVERSITE DE MICRO-ORGANISMES DES MILIEUX EXTREMES DES LAGONS DE LA NOUVELLE-CALEDONIE 107
UNITE EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES INFECTIEUSES..... 111

LE CONSEIL SCIENTIFIQUE

Avant 2010, l'IPNC était évalué tous les 4 ans par une commission scientifique composée de chercheurs de l'Institut Pasteur, et le cas échéant, de membres extérieurs nommés pour leur compétence. La dernière réunion s'est tenue en mars 2008.
Depuis 2010, il a été créé un Conseil Scientifique (CS) consultatif propre à l'IPNC, se réunissant tous les 18 mois. Il a pour mission de :
- conseiller le directeur sur les orientations stratégiques, les partenariats et les transferts technologiques qui seraient à développer;
- examiner les projets de recherche et les activités de santé publique en cours, avec une attention portée aux moyens à y consacrer ;
- établir un rapport d'évaluation incluant des recommandations.

Le CS de l'IPNC, nommé par la Directrice Générale de l'Institut Pasteur est composé de :
- Pr John AASKOV, Queensland University of Technology, Brisbane, Australie. Président.
- Pr Ben ADLER, Director, Australian Research Council Centre of Excellence in Structural and Functional Microbial Genomics, Monash University, Melbourne, Australie. Secrétaire.
- Pr Brian KAY, Queensland Institute of Medical Research, Brisbane, Australie.
- Pr Vincent DEUBEL, Directeur, Institut Pasteur, Phnom Penh, Cambodge.
- Dr Flore LACASSIN, Chef du service de médecine interne, Hôpital Gaston Bourret, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Le CS s'est réuni les 9 et 10 décembre 2010.

Considérant le rapport scientifique de la dernière commission d'évaluation en 2008, il s'est réjoui de l'amélioration nette des activités de recherche pendant cette période. Quelques projets sont jugés d'un excellent niveau, mais il estime le nombre de chercheurs insuffisant pour atteindre un niveau compétitif. Cependant, il prend acte i) des contraintes budgétaires et espère une amélioration prochaine des moyens destinés à la recherche, ii) de la situation complexe dans laquelle se trouve l'IPNC qui repositionne actuellement ses missions en Nouvelle-Calédonie.

Les recommandations du CS sont les suivantes :

- consolider les projets de recherche par un renforcement des équipes,
- structurer la recherche en 3 unité-programmes : leptospiroses, dengue/arbovirus, et rhumatisme articulaire aigu,
- recruter un chercheur senior pour le programme dengue/arbovirus,
- renforcer le secteur administratif et des ressources humaines,
- formaliser la procédure de planification des projets de recherche,
- dégager des moyens financiers pour la participation aux congrès internationaux et pour permettre de courts séjours d'échanges avec les équipes collaboratrices extérieures,
- construire le laboratoire P2+ le plus tôt possible pour les recherches en virologie et entomologie, et le traitement des prélèvements suspects de contenir des bacilles tuberculeux.

Le CS n'est pas convaincu de l'adéquation de la surface prévue pour le nouvel institut dans le médipôle, par rapport à la perspective envisagée pour le développement de la recherche et de la santé publique de l'IPNC.

LABORATOIRE DE RECHERCHE EN BACTÉRIOLOGIE

Responsable

- Cyrille GOARANT, Dr Vet., Dr Sc, HDR, bactériologiste

Collaborateurs IPNC

- Eric D'ORTENZIO, médecin épidémiologiste
- Mariko MATSUI, post-doctorante à partir du 1er février 2010
- Julie PEREZ, Volontaire Civile à l'Aide Technique, jusqu'à mars 2010
- Jérôme BECAM, Volontaire Civile à l'Aide Technique, depuis avril 2010
- Carine MAURON, technicienne de recherche jusqu'à avril 2010
- Lilian BRUYERE-OSTELLS, technicien de recherche depuis avril 2010
- Marlène VIC, Volontaire Civile à l'Aide Technique à l'Ifremer, détachée au LRB, jusqu'à août 2010
- Suzanne CHANTEAU, directrice IPNC

Collaborateurs locaux :

- Vincent ROULEAU (Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Territorial Gaston Bourret)
- Dominique BONTE (Service des Urgences, Centre Hospitalier Territorial)
- Fabrice BRESCIA (Institut Agronomique néo-Calédonien)
- Flore LACASSIN (Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Territorial)
- Céline MARCHAL (Laboratoires Officiels de la Nouvelle-Calédonie)
- Marc MIKULSKI (Service de Réanimation / Soins intensifs, Centre Hospitalier Territorial)
- Yannick LABREUCHE (Institut Français pour l'Exploitation de la Mer IFREMER)
- Clarisse MAJOREL (IRD – Plateforme du Vivant)

Collaborateurs nationaux :

- Farida NATO (Plateforme Technique PF 5, Institut Pasteur de Paris)
- Mathieu PICARDEAU et Pascale BOURHY (Unité de Biologie des Spirochètes, Institut Pasteur de Paris)
- Jacques D'ALAYER (Plate-forme d'Analyse et de Microséquençage des Protéines, Institut Pasteur de Paris)

Collaborateurs étrangers :

- Franck BERGER (Institut Pasteur de Guyane)
- Pascal BOISIER (Centre Pasteur du Cameroun)
- Mireille DOSSO et Kouamé KOUADIO (Institut Pasteur de Cote d'Ivoire)
- Bertrand GUILLARD et Sopheak HEM (Institut Pasteur du Cambodge)
- Frédérique LE ROUX (IFREMER détachée à Harvard Medical School)
- Antoine TALARMIN et Stéphanie GUYOMARD (Institut Pasteur de Guadeloupe)
- John TAPSALL et Tiffany SCHULTZ, (WHO Collaborating Centre for STD, Department of Microbiology, The Prince of Wales Hospital, Randwick, NSW, Australie)

LEPTOSPIRES ET LEPTOSPIROSES

Cyrille Goarant, Mariko Matsui, Jérôme Becam, Julie Perez, Lilian Bruyere-Ostells, Carine Mauron, Eric D'ortenzio, Suzanne Chanteau

1. INDICATEURS PRONOSTIQUES DANS LES FORMES GRAVES DE LEPTOSPIROSE

1.1. CONTEXTE ET RAPPEL

La leptospirose chez l'homme a des présentations cliniques allant d'un syndrome grippal bénin à guérison spontané à des formes graves, avec un tableau de choc septique et une défaillance multi-viscérale parfois fatale. Lors d'un diagnostic de leptospirose, les cliniciens doivent ainsi évaluer le risque d'aggravation de l'état du patient, afin de choisir une prise en charge adaptée. Dans l'état actuel, il existe peu de critères objectifs autres que ceux recueillis lors de l'examen clinique pour orienter le pronostic.
Lors de l'infection expérimentale d'un modèle animal sensible réputé bien reproduire les formes humaines de la maladie par une souche virulente de *Leptospira*, l'expression génique des cytokines pro- et anti-inflammatoires avait été établie, permettant d'établir un profil de production précoce (24 premières heures) et tardif (de 1 à 4 jours post-infection) et de corréler l'expression génique de certains effecteurs immunitaires à l'issue spontanée de la maladie. Ces facteurs ayant montré une certaine valeur pronostique sont actuellement étudiés sur des cas de leptospirose humaine dans le cadre d'une étude clinique en collaboration avec le Centre Hospitalier Territorial Gaston Bourret.

1.2. ETAT D'AVANCEMENT DU PROJET D'ETUDE DE LA REPONSE CYTOKINIQUE DE PATIENTS HOSPITALISES POUR LEPTOSPIROSE.

Débutée en avril 2009, cette étude prévoyait le recrutement de 30 à 50 patients atteints de leptospirose sur une durée de deux années. Dix-huit patients avaient ainsi pu être inclus dans l'étude au cours de l'année 2009. De la même façon, 18 patients ont pu être inclus au cours de l'année 2010. Les analyses sur les échantillons de ces patients ont été réalisées et l'ensemble des données relatives à ces patients a pu être saisi à l'aide d'une application dédiée. Le recrutement des patients s'achèvera début 2011 et l'étude devrait voir aboutir ses conclusions dans le courant de la même année.

2. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE EN MODELE ANIMAL

2.1. CONTEXTE ET RAPPEL

Le tableau clinique de la leptospirose est protéiforme, allant de formes frustes voire asymptomatiques à guérison spontanée et rapide jusqu'à des formes graves, parfois fatales. On distingue classiquement deux phases dans les formes cliniques classiques : la première est caractérisée par une fièvre, des myalgies, des maux de tête et des courbatures rappelant les symptômes de la grippe ou de la dengue. La seconde phase, quant à elle, conduit le plus souvent à des manifestations sévères voire létales chez les patients, pouvant notamment amener au syndrome de Weil associé à des atteintes hépatiques (ictère) et des défaillances rénales ainsi qu'au syndrome hémorragique pulmonaire aigu, ou SPHS pour *Severe Pulmonary Haemorrhagic Syndrome*.

L'étude des mécanismes par lesquels les leptospires activent le système immunitaire de l'hôte a révélé l'importance des médiateurs de l'inflammation, les cytokines tels que le *Tumor Necrosis Factor* (TNF)-α, l'interféron (IFN)-γ et les interleukines (IL)-1, IL-6 et IL-10. Une étude a notamment mis en évidence une corrélation entre les niveaux sériques de TNF-α et la sévérité des symptômes observés sur des patients atteints de leptospirose. Une autre étude a révélé que certaines chimiokines étaient significativement plus élevées chez des patients Thaïlandais, suggérant une activation de l'immunité cellulaire lors de l'infection.

Les travaux du Laboratoire de Recherche en Bactériologie de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie ont montré qu'il existait une expression différentielle des cytokines pro- et anti-inflammatoires au niveau sanguin corrélé avec le pronostic vital de hamsters infectés par *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae souche Verdun (Vernel-Pauillac et Goarant, 2010, rapport annuel 2009). Par ailleurs, des travaux récents portant sur le SPHS focalisent également sur l'expression cytokinique dans un modèle de hamster infecté par *L. interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae. Les observations histologiques et l'étude de l'expression génique ont révélé une hémorragie pulmonaire en relation avec une surexpression génique des cytokines TNF-α et IL-10 ainsi que la surexpression de l'enzyme endothéliale de synthèse de l'oxyde nitrique eNOS.

2.2. OBJECTIFS

Après l'étude de la régulation cytokinique au niveau sanguin et dans la continuité des travaux menés sur organes, nous nous intéressons à la caractérisation du profil d'expression génique de ces mêmes médiateurs de l'inflammation au niveau tissulaire dans le même modèle d'infection de hamster en employant des techniques de RT-qPCR. Cela permettra une approche de la physiopathologie de la leptospirose au niveau des différents organes cibles au cours de l'infection. Par ailleurs, l'étude comparative des mêmes profils cytokiniques entre un modèle sensible, le hamster, et un modèle résistant à l'infection, la souris, pourra mettre en évidence une différence d'expression entre les deux espèces, qui serait à mettre en corrélation avec la symptomatologie et le pronostic vital engagé chez le hamster ainsi que l'observation des lésions tissulaires en anatomie pathologique. La charge bactérienne dans les différents organes de ces deux modèles sera également déterminée afin de préciser la pathogénie.

2.3. MISE EN PLACE DES TECHNIQUES

La mise au point des techniques de biologie moléculaire a consisté dans un premier temps en l'élaboration de gammes standards des gènes cibles par qPCR sur le LightCycler 480. La technique d'extraction d'ARN total à partir des organes a également été mise en place, notamment le protocole de broyage tissulaire grâce à l'acquisition d'un appareil MagNa Lyser. En outre, il a été décidé de systématiser le traitement des ARN par la DNase Turbo afin d'éliminer l'ADN génomique résiduel.

L'essentiel des expérimentations animales a été réalisé en effectuant, d'une part, une étude histologique pour visualiser les lésions tissulaires, d'autre part une cinétique des profils d'expression des gènes cibles dans le sang et les organes d'animaux infectés (souris et hamsters) par la souche Verdun virulente (*L. interrogans* serovar *Icterohaemorrhagiae*). Parallèlement, la charge bactérienne a été étudiée par la quantification par RT-qPCR de l'ARNr 16S spécifique de leptospires et les bactéries ont été visualisées en histologie. La réalisation des coupes histologiques ainsi que l'observation des lésions au niveau tissulaire ont été effectuées au Laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHT de Nouvelle-Calédonie en collaboration avec le Dr Vincent ROULEAU.

2.4. RESULTATS PRELIMINAIRES

Les colorations H&E (hématoxiline-éosine) et WS (Warthin-Starry) ont été utilisées respectivement pour l'observation des modifications des structures tissulaires (Fig. 1) et pour la localisation des leptospires dans les organes cibles (Fig. 2). Les charges bactériennes ont montré une dissémination des leptospires dans les organes

de hamsters parallèlement à une augmentation continue de la leptospirémie (Fig. 3). Quant à l'étude de l'expression des cytokines, les résultats préliminaires nous ont conduit à compléter les expériences par une série de manipulations effectuées afin d'observer le possible effet du milieu de culture EMJH. Les résultats définitifs seront obtenus après normalisation sur les gènes de référence grâce au logiciel qBASE plus, récemment acquis et analyse de l'expression relative des gènes d'intérêt prévue en 2011. Ces travaux seront poursuivis et les résultats soumis à publication en 2011.

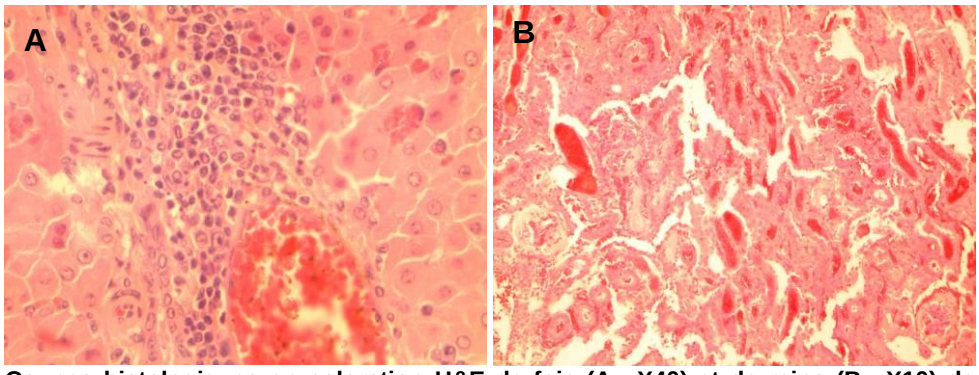


Figure 1 : Coupes histologiques en coloration H&E de foie (A ; X40) et de reins (B ; X10) de hamsters infectés par la souche virulente Verdun (*L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae) 4 jours après infection. Le foie comporte des infiltrats inflammatoires tandis que les reins présentent une congestion et une hémorragie sévères.

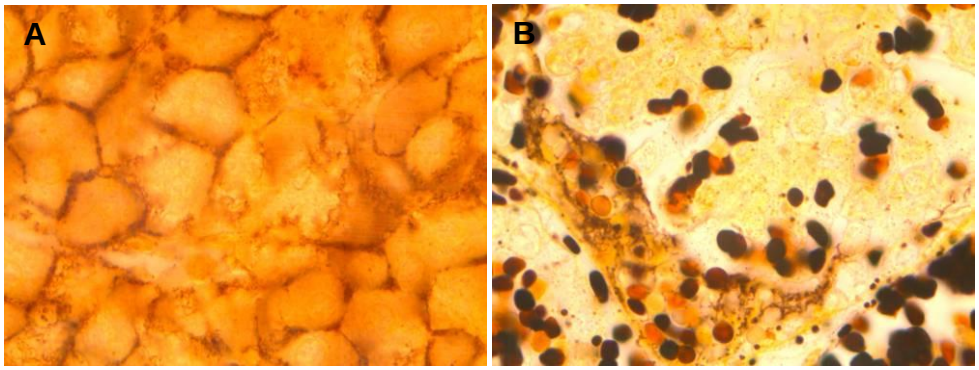


Figure 2 : Coupes histologiques en coloration de Warthin-Starry de foie (A ; X100) et de reins (B ; X100) de hamsters infectés par la souche virulente Verdun (*L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae) 4 jours après infection. De nombreux leptospires sont observés dans les espaces sinusoïdaux du foie et sont regroupés en amas dans les glomérules du rein.

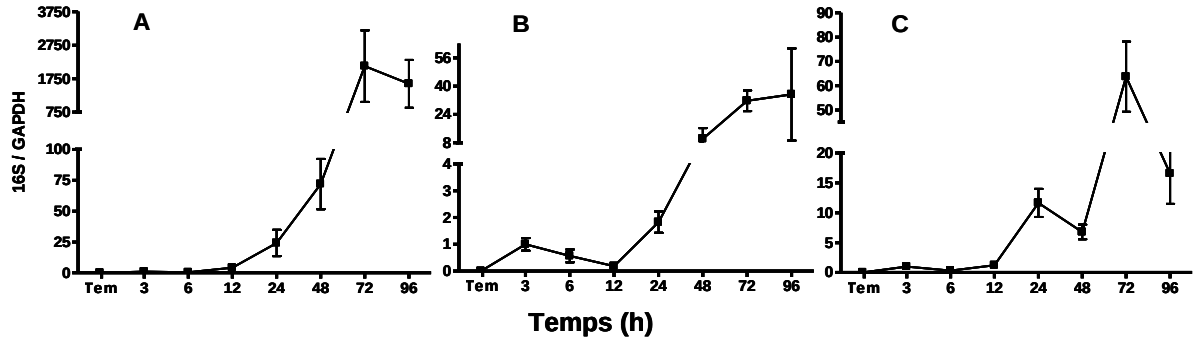


Figure 3 : cinétique de la charge bactérienne dans le foie (A), les reins (B) et les poumons (C) de hamsters infectés par la souche virulente Verdun (*L. interrogans* sérovar *Icterohaemorrhagiae*).

3. ECO-EPIDEMIOLOGIE DE LA LEPTOSPIROSE EN NOUVELLE-CALEDONIE

L'histoire naturelle de la leptospirose est extrêmement complexe et mêle environnement, vecteurs (rongeurs, mais aussi d'autres Mammifères domestiques et sauvages), et espèces sensibles dont l'homme. Dans un environnement insulaire comme celui de la Nouvelle-Calédonie où les échanges avec l'extérieur sont limités, une meilleure connaissance des populations de Mammifères réservoirs (espèces, densités, répartition) et des

souches de leptospires hébergées par ce réservoir, permettra de mieux appréhender un des maillons peu connu de cette zoonose et de définir des stratégies de lutte adaptées.

3.1. DEVELOPPEMENT D'UNE TECHNIQUE DE TYPAGE MOLECULAIRE DES LEPTOSPIRES DANS LES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES

Parallèlement au séquençage systématique des produits de PCR réalisé (voir rubrique « surveillance de la leptospirose ») et pour conforter les résultats issus de ce travail, une étude de typage moléculaire par Multi Locus Sequence Typing (MLST) a été menée sur des isolats calédoniens, en nous efforçant d'intégrer la plus grande variabilité disponible. Les résultats de cette étude de typage confortent ceux issus du typage rapide réalisé par le séquençage direct des produits de la PCR diagnostique. Ces travaux permettent ainsi d'accorder une bonne valeur, dans le contexte calédonien, à l'identification présomptive des souches sur la base d'une séquence courte et facilement amplifiée. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication en fin d'année.

3.2. DYNAMIQUE DES RONGEURS ET DE LEUR PORTAGE DE LEPTOSPIRES DANS UNE ZONE D'HYPERENDEMIE DE LEPTOSPIROSE

En collaboration avec Fabrice Brescia de l'Institut Agronomique néo-Calédonien

Dans le cadre d'un site pilote (les tribus de Pothé et Bouirou sur la commune de Bourail, Nouvelle-Calédonie), nous avons caractérisé les populations de rongeurs et les souches de leptospires pathogènes qu'ils hébergent (prévalence, génotypes) au cours de 4 campagnes d'échantillonnage couvrant les saisons chaudes et fraiches de 2009 et 2010.
Au cours de l'année, deux nouvelles campagnes ont donc été réalisées en mars et septembre / octobre 2010. Les effectifs de rongeurs capturés ont été bien inférieurs à ceux capturés aux mêmes périodes l'année précédente, une observation à mettre en parallèle avec des conditions climatiques extrêmement différentes. De façon intéressante, une prévalence du portage de leptospires sensiblement plus basse a également été notée.
Enfin, un surmulot *Rattus norvegicus* a été capturé dans notre zone d'échantillonnage de Pothé, alors que cette espèce n'y avait pas été mise en évidence en 2009.
Les résultats de l'ensemble de ces travaux feront l'objet d'une publication.

3.3. CONTRIBUTION DES AUTRES MAMMIFERES AU MAINTIEN ET A LA DISSEMINATION DES LEPTOSPIRES PATHOGENES

Il est reconnu que d'autres animaux d'élevage ou sauvages jouent un rôle déterminant dans la circulation des leptospires pathogènes et les contaminations humaines et ceux-ci doivent être étudiés afin d'optimiser les moyens de lutte préventive.
Au cours de l'année 2010, nous avons effectué une campagne d'échantillonnage de reins de bovins à l'abattoir de l'OCEF à Bourail, au cours de laquelle 33 bovins adultes et 4 veaux ont été échantillonnés. Aucun portage de leptospire n'a été mis en évidence à cette occasion. De nouveaux échantillonnages seront effectués après la période de sécheresse de 2010, en ciblant préférentiellement des élevages moins professionnels que ceux échantillonnés à cette occasion.
Des chiens et chats errants de la commune de Nouméa ont également pu être étudiés grâce à la collaboration de la fourrière municipale de Nouméa. Aucun portage chronique de leptospire n'a été mis en évidence sur les 32 chiens et 15 chats échantillonnés. Au niveau sérologique, des anticorps ont été détectés sur 8 chiens sur 31 (~26%) et aucun chat (sur 30 analysés). Ces résultats confirment que les chats ne contribuent ni au maintien ni à la dissémination des leptospires, un phénomène reconnu dans les autres régions où la question a été étudiée. Ils suggèrent également que les chiens ne contribuent pas de façon significative à la circulation de la leptospirose dans l'agglomération de Nouméa, alors qu'ils constituent dans certaines régions du monde un réservoir majeur conduisant à l'exposition des humains. Ces résultats ne sont toutefois pas représentatifs de la situation en zone rurale ou tribale, où les chiens, plus nombreux et divaguant plus fréquemment, sont, de plus, souvent exposés à d'autres Mammifères sauvages ou d'élevage. Dans une étude antérieure portant sur 24 chiens de zone tribale en province Nord, 54% des chiens analysés présentaient des anticorps témoignant d'une infection par des leptospires, les sérogroupes incriminés étant les mêmes que ceux identifiés dans les cas humains (sérums fournis par Nina Gonzalez, IAC). Ainsi, malgré nos résultats sur la commune de Nouméa, il demeure possible qu'en zone rurale ou tribale, les chiens puissent avoir un rôle dans la circulation zoonotique des leptospiroses.

4. DEVELOPPEMENT ET EVALUATION D'UN TEST DE DIAGNOSTIC RAPIDE

Les techniques de référence pour le diagnostic de la leptospirose sont lourdes à mettre en œuvre et demandent du matériel et du personnel spécialisés. Développer un test fiable transportable et facile à utiliser présenterait un réel intérêt pour les dispensaires ou les médecins dans les pays ayant une forte incidence de la leptospirose.
L'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie en collaboration avec l'Institut Pasteur de Paris a donc choisi deux cibles pour la détection des leptospires dans le sang afin de développer un test bandelette :

- Loa22, produit d'un des deux gènes de virulence connus, est la deuxième protéine de surface la plus abondante chez les leptospires ;
- le Lipopolysaccharide (LPS) qui est le principal antigène de surface et diffère de celui des autres bactéries Gram négative.

Plusieurs séries d'immunisations avec du LPS ou une protéine Loa22 recombinante ont été réalisées sur des souris afin de produire des IgG ou des IgM monoclonales. Les IgG monoclonales obtenues avaient une faible affinité. Toutefois deux d'entre elles, dirigés contre Loa22 ont été évaluées par la réalisation de tests ELISA direct en sandwich. Ces tests ont confirmé une affinité trop faible de ces anticorps ou bien indiquent une trop faible concentration des antigènes cibles pour être détectables.
Face à la difficulté de la détection d'antigène, notre stratégie s'est réorientée vers un test bandelette pour la détection des anticorps anti Leptospires. La protéine recombinante Loa22 est déposée sur nitrocellulose et constitue la bande test, la bande contrôle étant un anticorps anti IgG. La réaction est révélée par de la protéine A couplée à de l'or. Aucune réaction positive n'a été observée. La présence d'IgG anti-Loa22 a pu être vérifiée par un test ELISA dans le sérum de patients confirmés, mais pas celle des IgM anti-Loa22.

Des bandelettes avec différentes stratégies de détection des anticorps IgM anti-LPS seront évaluées en 2011.

5. TRAVAUX PRELIMINAIRES SUR LES FACTEURS DE VIRULENCE DES LEPTOSPIRES PATHOGENES

Les connaissances sur la physiopathologie de la leptospirose sont encore limitées et hormis l'inoculation à l'animal sensible, peu de marqueurs permettent de déterminer la virulence des leptospires. En effet, la caractérisation des facteurs de virulence de ces bactéries est encore peu avancée : à l'heure actuelle deux gènes seulement ont pu être liés de façon formelle à la virulence. Pourtant, un certain nombre d'autres gènes sont considérés comme très probablement impliqués dans la virulence sur la base de l'activité biologique de leur produit ou du fait des homologies qu'ils présentent avec des gènes dont le rôle dans la virulence a été confirmé dans d'autres genres bactériens. Toutefois, ces suppositions sont basées sur des caractères fonctionnels montrés ou suspectés sans confirmation formelle de leur rôle, ni compréhension des mécanismes. Les leptospires sont en effet des bactéries éloignées du modèle *Escherichia coli* ou d'autres genres bactériens chez lesquels de multiples outils génétiques sont disponibles.
Les génomes complets de quatre souches de leptospires virulentes ont été publiés, permettant d'améliorer la description de gènes suspectés d'être liés à la virulence, ainsi que de voir leur conservation au sein des leptospires pathogènes. Plus récemment, le génome d'un leptospire saprophyte a été entièrement séquencé permettant également de repérer par comparaison les gènes qui sont spécifiques des génomes des souches virulentes.
Le but de notre projet est la recherche de gènes liés à la virulence chez les leptospires et l'étude de leurs mécanismes d'action. Il comprendra d'une part la production de protéines recombinantes grâce à des *E. coli* transformantes, permettant d'étudier leurs fonctions putatives *in vitro*. D'autre part, ces mêmes ORFs dont on suspecte une implication dans la virulence seront introduits et exprimés dans une souche saprophyte afin de permettre une modification post-traductionnelle des protéines se rapprochant de celle subie dans les leptospires pathogènes. Les modifications du phénotype de ces transformants seront également étudiées.

5.1. CHOIX DES GENES CANDIDATS

Grâce à la disponibilité de 2 génomes de *L. interrogans*, 2 génomes de *L. borgpetersenii* et de celui du saprophyte *L. biflexa*, il a été possible de mettre en évidence des séquences uniquement présentes dans les génomes des souches pathogènes. Cela a été possible grâce à l'utilisation de la plateforme informatique Mage (Magnifying Genomes) du Génoscope, qui permet de réaliser aisément des comparaisons entre différents génomes. Une recherche de domaines protéiques particuliers a ensuite été faite en utilisant le logiciel en ligne SMART (Simple Modular Architectural Tool). Certains ORFs ont été ainsi sélectionnés suite à la mise en évidence de domaines d'intérêt par SMART. D'autres ORFs ont été choisis parce que ceux-ci étaient surexprimés dans des conditions reproduisant l'infection d'un Mammifère (soit une osmolarité proche du milieu intérieur, soit à une température de 37°C, soit en présence de sérum). Au total, 18 gènes candidats ont été retenus.

5.2. CLONAGE ET CHOIX DU SYSTEME D'EXPRESSION HETEROLOGUE

Les 18 gènes putatifs sélectionnés ont été amplifiés par PCR depuis l'ADN génomique de *L. interrogans* serovar *Copenhageni* souche Fiocruz L1-130 (dont le génome complet est publié). Deux produits de PCR ont été générés, pour chacun des ORFs. L'un comprenait le gène complet incluant sa région promotrice, quand les cartes de restriction respectives le permettaient (n= 11), l'autre uniquement la partie codante (n= 18). Une étape intermédiaire a été réalisée dans le vecteur de clonage pCR2.1 (Invitrogen) afin de permettre une production de masse des inserts avec une fidélité plus grande que celle obtenue par PCR. Cela facilite également l'étape de séquençage car il est possible d'utiliser les amorces internes au plasmide.
En rajoutant, les sites de restriction spécifiques lors de la conception des amorces, il est rendu possible la production de vecteurs d'expression recombinants, après digestion par ces mêmes enzymes. Les vecteurs d'expression pET302 Champion™ et pET303 Champion™ (Invitrogen) ont été choisis, qui permettent respectivement l'obtention de protéines recombinantes possédant un His-Tag en N-terminal ou en C-terminal, afin de faciliter les étapes ultérieures de purification.
Plusieurs de nos candidats ont ainsi pu être clonés dans les vecteurs d'expression pET303. Ils ont été introduits dans des *E. coli* BL21 afin de pouvoir produire les protéines recombinantes d'intérêt et débuter les tests fonctionnels.

Selon les résultats obtenus ou les difficultés rencontrées, nous tenterons d'obtenir des transformants de *L. biflexa* exprimant nos protéines candidates, sous le contrôle du promoteur du gène hsp10 qui permet leur expression constitutive.

6. CREATION D'UN « RESEAU LEPTOSPIROSE » AU SEIN DU RESEAU INTERNATIONAL DES INSTITUTS PASTEUR

La leptospirose, considérée comme une maladie tropicale négligée et parfois décrite comme émergente, constitue un réel problème de santé publique dans nombre de pays en voie de développement, mais connait aussi une recrudescence avérée dans des pays développés tempérés. Dans les pays tropicaux en développement, où les populations sont souvent moins médicalisées, les tableaux cliniques de syndromes grippaux fébriles peuvent avoir des étiologies variées et posent un grave problème de diagnostic différentiel (grippe, dengue, hépatites, paludisme, fièvres hémorragiques virales…). Même face à un tableau clinique de syndrome ictéro-hémorragique, le clinicien n'envisage la leptospirose que s'il est sensibilisé à cette pathologie et s'il peut disposer, d'un diagnostic de confirmation à un tarif et d'une accessibilité acceptables. Ainsi, certains syndromes fébriles peuvent rester d'étiologie inconnue par défaut de disponibilité du diagnostic de leptospirose.
Le diagnostic de certitude de la leptospirose repose sur la mise en évidence de leptospires dans les liquides biologiques (culture - qui est longue et très délicate - ou amplification génique à partir de sang, d'urine ou de LCR) ou par une séroconversion (nécessitant donc 2 prélèvements successifs) mise en évidence par le test de micro-agglutination (MAT) particulièrement délicat aussi et qui n'est mis en œuvre que dans un nombre limité de laboratoires spécialisés. La mise en place de ces techniques de diagnostic doit se faire en appui avec des centres référents expérimentés sur ces techniques.
Cette difficulté diagnostique est un des éléments contribuant significativement à la sous-estimation de cette maladie dans nombre de pays. Pourtant, un diagnostic précoce permet une prise en charge médicale efficace, améliorant très significativement le pronostic. Pour les gestionnaires de la santé publique, la reconnaissance de la présence de cette maladie (à la fois zoonotique et environnementale) et l'évaluation de son importance peuvent permettre d'orienter des décisions touchant aux priorités sanitaires locales ou régionales, à la politique de santé publique vétérinaire, à l'aménagement du territoire dans le cadre de la gestion hydrographique ou des déchets ou au contrôle des espèces animales sauvages ou en divagation.

Notre projet vise à développer au sein de plusieurs instituts du du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP) (dans des pays où la leptospirose pourrait être fortement sous-estimée) une capacité diagnostique de cette maladie et d'évaluer dans ces régions la présence et l'importance de la leptospirose par une étude de sa contribution à des syndromes fébriles de diagnostic différentiel complexe.

Les instituts membres du RIIP de Nouvelle-Calédonie, du Cambodge, de Guadeloupe, de Guyane du Cameroun et de Côte d'Ivoire, ainsi que le Centre National de Référence à l'Institut Pasteur de Paris participent à ce projet.

Débuté fin 2009, ses objectifs spécifiques sont les suivants :

- Instaurer une capacité diagnostique locale de la leptospirose. Du fait des apports reconnus du diagnostic moléculaire (diagnostic précoce et rapide), l'effort sera focalisé sur celui-ci. Toutefois, afin de prendre en compte le risque d'une demande diagnostique plus tardive, une technique de diagnostic sérologique sera également mise en place, la possibilité de détection des leptospires dans les fluides biologiques étant souvent fugace ;
- Documenter la présence de leptospirose humaine dans des pays où elle n'est pas, plus ou seulement très rarement envisagée ;
- Créer et faire vivre un réseau « Leptospiroses » au sein du RIIP, dans le but de partager les avancées technologiques dans le domaine du diagnostic, d'améliorer les connaissances sur l'épidémiologie et l'impact en santé publique et de mener des études multi-sites sur des questions jugées pertinentes.

Au cours de l'année 2010, l'avancement du projet a été très variable selon les partenaires. Toutefois, la capacité diagnostique de la leptospirose est désormais acquise dans la plupart des instituts partenaires du projet.

ETUDES SUR LES VIBRIO PATHOGENES DES CREVETTES D'ELEVAGE : COLLABORATION AVEC L'IFREMER

Cyrille Goarant, IPNC, Laboratoire de Recherche en Bactériologie
Marlène Vic et Yannick Labreuche, Ifremer, Nouvelle-Calédonie

1. CONTEXTE ET RAPPEL

L'aquaculture calédonienne s'est développé grâce à l'introduction de la crevette bleue du Pacifique, *Litopenaeus stylirostris*, originaire d'Amérique Latine. Cette filière a connu un essor considérable, mais doit faire face depuis quelques années à deux pathologies saisonnières, dues à des bactéries du genre *Vibrio*. Ces pathologies s'expriment sous forme d'épidémies et constituent un menace majeure pour la pérennité de la filière. C'est au cours de la saison fraîche de 1993 que sont apparus les premiers phénomènes de mortalité impliquant *Vibrio penaeicida*, puis au cours de la saison chaude fin 1997 qu'est apparue une seconde maladie induite par des souches hautement pathogènes de *Vibrio nigripulchritudo*. Face à ces pathologies l'IFREMER a mis en place un programme de recherche multidisciplinaire afin de comprendre les interactions hôte/environnement/pathogène menant à l'expression de ces vibrioses. Chez *V. penaeicida* ces études avaient mis en évidence le rôle majeur dans la virulence d'exotoxines exprimées lorsque ce vibrion est cultivé à basse température. Chez *V. nigripulchritudo*, la sécrétion d'exotoxines, également démontrée est corrélée avec la virulence. Au niveau génétique, un plasmide a été identifié également corrélé à la virulence des souches hautement pathogènes. Le séquençage complet du génome de l'isolat de *V. nigripulchritudo* SFn1 a également montré la présence d'un second plasmide, de grande taille, également nécessaire à la haute virulence.
La collaboration entre l'IFREMER et l'IPNC est établie depuis plus de 10 ans et a notamment permis de développer des outils diagnostiques par PCR quantitative de *V. penaeicida* ou des souches pathogènes de *V. nigripulchritudo* dans les bassins d'élevage. En septembre 2008, une nouvelle collaboration scientifique a été initiée afin d'étudier les facteurs de virulence de ces deux *Vibrio* pathogènes des crevettes de Nouvelle-Calédonie. Pour cela il a été proposé concernant *V. penaeicida,* de purifier et caractériser le (ou les) composé(s) responsable de la virulence et d'identifier leur(s) support(s) génétique(s), puis d'évaluer l'effet de différents facteurs du milieu de culture sur les niveaux d'expression de cette (ces) exotoxine(s) par RT-qPCR.

2. TRAVAUX EFFECTUES EN 2010

2.1. ESSAIS D'IDENTIFICATION DE PROTEINES LIEES A LA VIRULENCE

En utilisant les conditions qui avaient pu être déterminées comme favorisant l'expression des exotoxines, deux approches, l'une protéomique l'autre transcriptomique, ont été mises en œuvre afin de tenter de caractériser la (les) exotoxine(s) responsable(s) de la toxicité des produits extracellulaires.

Trois protéines d'environ 35, 55 et 72kDa ont été suspectées d'être potentiellement impliquées dans la toxicité des surnageants de *V. penaeicida*. Après transfert sur membrane de PVDF, elles ont été soumises à un séquençage N-terminal à la Plateforme d'Analyse et de Microséquençage des Protéines de l'Institut Pasteur de Paris, permettant l'obtention de séquences N-terminales pour ces trois protéines. Par homologie de séquence avec des banques de données publiques ou privées (Génoscope), nous avons pu identifier de façon présomptive les protéines séquencées. La séquence en acides aminés de la protéine ayant une taille apparente de 35kDa présente une très forte homologie avec la porine OmpU d'autres espèces de *Vibrio*, permettant ainsi d'identifier cette protéine comme étant la porine OmpU de *V. penaeicida* AM101. Le séquençage N-terminal de la protéine ayant une taille apparente de 55kDa nous a permis d'identifier cette protéine comme étant vraisemblablement une partie d'un ABC transporteur de sucres. Enfin la séquence en acides aminés de la protéine ayant une taille de 72kDa donne une identité parfaite avec une protéine présente sur le plasmide pB1066 de *V. nigripulchritudo*, impliqué dans la virulence (Le Roux *et al.*, 2011).
Ainsi ces travaux nous ont permis d'identifier deux protéines (une porine OmpU d'environ 35kDa et une protéine de fonction inconnue d'environ 72kDa identifiée chez *V. nigripulchritudo* sur un plasmide nécessaire à la virulence) dans les produits extracellulaires de *V. penaeicida* pouvant être impliquées dans la virulence.
Par une technique de PCR avec des amorces dégénérées dessinées à partir i) des séquences N-terminales et/ou ii) des séquences nucléotidiques de *V. nigripulchritudo* SFn1, spécifique de *ompU* et de la protéine de fonction inconnue de 72kDa, et du séquençage, nous avons identifié une partie du support génique de la porine (810 bp) et la séquence complète de l'ORF de la protéine de 72kDa, 100% identique à celle qui est retrouvée sur le plasmide de *V. nigripulchritudo* SFn1. Cette protéine de fonction inconnue présente toutefois une similarité avec la protéine Afp18 (pour "AntiFeeding Prophage") de *Serratia entomophila* (un pathogène d'insectes), à support plasmidique et liée à la virulence. A ce titre, elle nous semble présenter un certain intérêt.

Parallèlement, nous avons séquencé des bandes obtenues par RAPD-PCR qui étaient différentielles entre des cDNA issus d'une culture dont le surnageant était très toxique (milieu riche, 22°C) ou d'une culture dont le surnageant n'était pas toxique (milieu peu riche, 28°C). Ces séquences ont identifié plusieurs protéines comme étant probablement surexprimées en conditions toxiques, parmi lesquelles un régulateur transcriptionnel et une phosphoglucomutase nous semblant présenter un intérêt.

2.2. MISE EN PLACE D'UNE RT-QPCR : ETUDE DE L'EXPRESSION GENIQUE

Dans l'optique d'étudier les conditions modulant l'expression des facteurs de virulence, nous avons développé une technique d'étude de l'expression génique chez ces 2 *Vibrio*, par une technique de RT-qPCR.
Les travaux ont porté sur la détermination de la meilleure technique d'extraction des ARN pour ces deux souches, ainsi que sur le choix de gènes de ménage exprimés de façon stable.
Appliquée à la phosphoglucomutase mise en évidence par l'approche décrite ci-dessus, cette technique confirme une surexpression de ce gène d'un facteur 7 en conditions toxiques par rapport aux conditions non toxiques.

3. CONCLUSION

Les travaux sur ces *Vibrio* ont été interrompus à la fin du contrat de la VCAT affectée à ce travail. Ils ont permis de mettre en place un système solide d'étude de l'expression génique chez les *Vibrio* pathogènes de crevettes, ainsi que de mettre en évidence plusieurs protéines de *V. penaeicida* qui pourraient mériter des travaux complémentaires : une phosphoglucomutase surexprimée en conditions de culture favorisant l'expression des toxines, mais surtout une protéine de fonction inconnue, dont l'identité parfaite au niveau nucléotidique avec *V. nigripulchritudo* évoque très fortement un transfert horizontal de gènes entre ces deux pathogènes, évocation renforcée par le support plasmidique de ce gène chez *V. nigripulchritudo*. La similitude de cette protéine avec une protéine (également à support plasmidique) impliquée dans la virulence chez un pathogène d'insecte renforce l'hypothèse de sa contribution à la virulence de ces deux *Vibrio* pathogènes de crevettes.

Un rapport (Ifremer – IPNC) de VCAT rédigé en fin de séjour reprend l'ensemble de ces travaux et résultats.

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

Responsable :
- S. MERMOND, médecin biologiste

Collaborateurs LEM :
- M. DUPONT-ROUZEYROL, chercheur microbiologiste
- O. O'CONNOR, technicienne de recherche
- R. DUFOURCQ, VCAT
- E. CHALKIADAKIS, doctorant Ifremer-IPNC
- V. ZURAWSKI, interne en biologie

Collaborateurs IPNC :
- E. CHALUS
- E. D'ORTENZIO

Collaborateurs externes :
- V-M. CAO-LORMEAU, Institut Louis Malardé, Tahiti
- J. AASKOV, WHO Collaborating Centre for Arbovirus Reference and Research, Australie
- M. GRANDADAM, CNR Arbovirus, Paris
- PG. WANG, Hong-Kong Pasteur Research Center
- I. MISSOTTE, L. BESSON-LEAUD, V. DEBRANOT, C. CHEVALIER, Service de Pédiatrie, CHT Magenta
- B. DUPARC, Service de radiologie, CHT Gaston Bourret
- O. LEVINE, A. DELUCA, A. DISCROLL, AM. KNOLL, Johns Hopkins School of Public Health, USA
- D. MURDOCH, Université d'Otago, Nouvelle-Zélande
- L. LOUBERSAC, Y. LABREUCHE, Ifremer St-Vincent
- J. GUEZENNEC, C SIMON-COLIN, Ifremer Brest

LA DENGUE

1. EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DES VIRUS DE LA DENGUE DES EPIDEMIES PASSEES ET ACTUELLES DE NOUVELLE- CALEDONIE ET DU PACIFIQUE SUD (DEN-PACSUD)

M. Dupont-Rouzeyrol, O. O'Connor, M. Grandadam, J. Aaskov, S. Chanteau, V-M. Cao-Lormeau.

1.1. CONTEXTE

Cette thématique de recherche émane d'une collaboration avec l'Institut Louis Malardé à Tahiti, le Centre Collaborateur OMS des Arbovirus en Australie et le CNR Arbovirus à l'Institut Pasteur Paris. Ce projet bénéficie de 2 financements à la recherche : le Fonds du Pacifique Sud (2008-2009-2010) et l'ANR (2009-2012). A l'IPNC, le projet a débuté fin 2008. Cette étude comporte trois volets, mais l'IPNC ne participe qu'au premier volet :

- Epidémiologie moléculaire et évolution génétique des virus de la Dengue dans le Pacifique Sud ;
- Diversité génétique intra-hôte du virus de la dengue chez des personnes infectées ;
- Evolution génétique et diversité intra-hôte du virus de la dengue chez les moustiques.

La dengue classique et ses formes sévères restent un problème de santé publique majeur dans pratiquement toutes les régions tropicales et intertropicales. Selon les estimations de l'OMS, environ 2,5 milliards d'individus sont exposés au risque d'infection par le virus de la dengue. Chaque année dans le monde, il y aurait près de 50 millions de cas d'infection, 500 000 hospitalisations et plus de 24 000 décès, dont une très forte proportion d'enfants.

L'agent étiologique de la dengue est un virus à ARN de la famille des *Flaviviridae* transmis par des moustiques du genre *Aedes*, principalement *Ae aegypti,* mais également *Ae albopictus* et des vecteurs endémiques tels qu'*Ae polynesiensis*. Il existe quatre sérotypes de dengue (DEN1, DEN2, DEN3 et DEN4). L'infection induit une immunité durable contre le sérotype infectant, mais l'immunité croisée contre les autres sérotypes n'est que temporaire. L'infection par le virus de la dengue peut se manifester sous diverses formes cliniques allant de la forme bénigne classique à la dengue hémorragique qui peut parfois se compliquer d'un syndrome de choc hypovolémique, souvent fatal.

Dans le Pacifique Sud, les plus lointaines épidémies de « dengue probable » datent de la seconde moitié du XIX^{ème} siècle. Entre 1943 et 1944, la DEN1 a été à l'origine d'une véritable pandémie dans la région. Puis le virus

n'a plus été détecté, avant de ré-émerger 20 ans plus tard avec la DEN3. Depuis, des épidémies dues aux différents sérotypes de dengue se sont succédé de façon régulière dans les îles du Pacifique Sud. Les premières formes hémorragiques sont apparues dans la région au début des années 70, avec des épidémies de DEN2 en 1971 en Polynésie française et de DEN1 en 1975 à Tonga.

L'histoire aussi bien passée que contemporaine de la dengue dans le Pacifique Sud (Polynésie française, Iles Cook, Samoa, Tonga, Fidji, Wallis et Futuna, Nouvelle Calédonie, Vanuatu) montre la nécessité d'y coordonner aussi bien les activités de surveillance que de recherche. Les contextes géographique et sociologique qu'elles partagent (insularité, climat, présence de vecteurs endémiques, faibles flux de population…) font de l'épidémiologie de la dengue dans ces îles une exception parmi les autres régions du monde où circule le virus. De plus, la multiplication des échanges commerciaux avec ces régions et entre les îles s'est montrée particulièrement propice à l'émergence d'épidémies de dengue en cascade, notamment en 2003-2004 et en 2007-2008 avec la DEN1 et plus récemment en 2008-2009 avec la DEN4.

L'objectif de cette étude est de caractériser l'évolution génétique des souches virales de dengue dans les îles du Pacifique Sud (sources d'introduction, dérive génétique, évènements de recombinaisons), en l'associant à différents facteurs: temporels, géographiques, éco-biologiques (climat, vecteurs), épidémiologiques (période épidémique / inter-épidémique), cliniques… Cette étude contribuera à identifier les évènements et les facteurs qui caractérisent l'épidémiologie de la dengue dans la région.

1.2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les sérums des patients positifs en Dengue des précédentes épidémies de Nouvelle-Calédonie et de Wallis et Futuna ont été sélectionnés, les virus amplifiés et sur cellules et le gène E (codant pour l'enveloppe du virus) séquencé. L'analyse phylogénétique a été réalisée à l'Institut L. Malardé. Les souches virales déjà analysées correspondent aux souches des épidémies de DEN3 de 1989-1990 et 1995-1996, de DEN2 de 1998-1999, de DEN1 de 2003-2004 et 2008-2009 et de DEN4 de 2008-2009.

L'analyse phylogénétique des souches de DEN3 (1989-1996) montre que toutes les souches appartiennent au génotype I et se regroupent au sein du clade Pacifique. L'arbre phylogénétique suggère une origine Sud-Est asiatique pour ces souches responsables de l'épidémie de DEN3 des années 90, la souche Indonésie 73/228761 étant la plus proche. Au sein du clade Pacifique, les souches s'agrègent en deux groupes : Fiji/Samoa et PF/NC/WF. L'analyse génétique des souches montre que des mutations silencieuses apparues en PF se retrouvent ensuite dans toutes les souches de PF/NC/WF depuis 1994. Après 1994, des mutations silencieuses en nucléotides sont acquises indépendamment en PF ou en NC, certaines étant partagées par des souches de NC et WF. Une mutation retrouvée sur les souches plus récentes de PF aboutit à une substitution en acides aminés non conservative dans le domaine II de la protéine d'enveloppe E.

En ce qui concerne les souches de DEN4 (2008-2010), elles appartiennent au même génotype (Ia) et sont regroupées dans le clade Pacifique. La souche Singapore01/0108a est la souche la plus proche génétiquement de ce clade suggérant encore une origine d'Asie du Sud-Est pour ces souches des iles du Pacifique Sud (SPIC).

Quant aux souches de DEN1 de 2001-2010, elles appartiennent au génotype IV et sont regroupées en deux clades (Pacifique a et b). Pacifique clade a et b sont respectivement proches de souches d'Indonésie et de Philippines témoignant de l'introduction d'évènements distincts au début des années 2000 (Figure 3). Une seule lignée a ensuite été maintenue jusqu'en 2010 générant ainsi le clade Pacifique a. L'analyse génétique des souches du clade Pacifique a montre que des mutations apparues pour la première fois en PF au début des années 2000 se sont fixées à travers le temps sur toutes les souches.

Enfin, concernant l'épidémie de DEN2 1998-1999, l'analyse phylogénétique montre la formation de deux clades distinctes fonction de la zone géographique : Pacifique Sud-Ouest (probable origine africaine), Pacifique Sud-Est (probable origine sud-est asiatique). Il y aurait eu donc deux introductions distinctes de souches de DEN2 dans le Pacifique à cette époque. Les analyses génétiques plus complètes sont en cours.

Ces analyses phylogénétiques confirment les précédentes observations de la circulation prédominante d'un seul sérotype/génotype dans le Pacifique Sud, principalement introduit d'Asie du Sud-Est. Au sein de chaque génotype, les souches des SPIC forment un clade Pacifique suggérant une évolution commune de ces souches dans la région. L'analyse génétique complète du gène E des souches des SPIC montre l'émergence à travers le temps de mutations spécifiques d'une île ou d'un groupe de pays. Plus spécifiquement, en analysant la fixation des mutations sur le gène E à travers le temps et l'espace des souches de NC, PF et WF, on peut s'apercevoir que la plupart d'entre elles apparaissent pendant la première phase de l'épidémie. Une fois ces mutations acquises dans l'un de ces pays, ces mutations sont conservées et transmises aux souches collectées plus tard.

A l'inverse, on trouve des mutations acquises localement durant la période de réémergence de l'épidémie (seconde phase). Enfin, même si la plupart de ces mutations en nucléotides sont silencieuses, elles sont représentatives d'impacts spécifiques sur l'évolution du virus de la dengue dépendant du contexte régional et

local. Certaines des mutations ont causé des substitutions en acides aminés de la protéine d'enveloppe E. Ces mutations pourraient conférer un avantage sélectif au virus en fonction de l'environnement dans lequel il se trouve. Ces observations attestent de l'importance du contexte géographique sur l'évolution des virus de Dengue.

1.3. PERSPECTIVES

Les résultats obtenus permettront une meilleure connaissance: i) de l'impact des facteurs environnementaux sur l'évolution génétique du virus de la Dengue ; ii) des résultats/causes des caractéristiques épidémiologiques des épidémies de Dengue dans le Pacifique Sud. Non seulement ces informations sont indispensables à la mise en place d'une surveillance épidémiologique proactive coordonnée contre la dengue, mais la démarche, autant que les résultats obtenus, contribueront à étendre la surveillance à d'autres arboviroses à risque pour la région. En effet, on observe une émergence régulière des épidémies de Dengue dans le Pacifique et ce malgré l'utilisation active de mesures de contrôle des vecteurs. Les données épidémiologiques et moléculaires que l'on obtiendra permettront d'anticiper l'apparition de tels évènements comme l'apparition des génotypes, zones et situations à risques.
De plus, le profil épidémiologique particulier des épidémies de Dengue dans le Pacifique Sud (absence prolongée de co-circulation de plusieurs sérotypes…) suggère que le virus de la Dengue est soumis à des contraintes spécifiques à la région. L'identification de ces contraintes (certainement différentes des autres grandes régions soumises à la Dengue : Asie du Sud-Est, Amérique Latine… où des vaccins sont en cours d'essai) permettra peut-être d'anticiper l'impact potentiel des futurs vaccins anti-Dengue.

2. LES PSEUDO-PARTICULES VIRALES DE DENGUE : APPLICATIONS EN DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE ET SERONEUTRALISATION

PG. Wang, M. Grandadam, S. Chanteau, M. Dupont-Rouzeyrol.

2.1. CONTEXTE

Le diagnostic différentiel entre la dengue et d'autres infections virales dengue-like (grippe, hépatites) ou bactériennes (leptospirose) est important en zones tropicales et intertropicales. Au début de l'infection, le diagnostic peut se faire par RT-PCR, isolement du virus sur cellules ou détection de l'antigène viral NS1. Après 5 jours, le diagnostic repose sur des méthodes sérologiques (IgM). Ces tests immunodiagnostiques, ne permettent qu'un diagnostic probabiliste, mais présente plusieurs avantages :

- prélèvement de sang dans une fenêtre beaucoup plus large
- acheminement du prélèvement à température ambiante
- automatisation possible et coût réduit par rapport à la RT-PCR.

Ils sont de ce fait largement développés et commercialisés.

Récemment, l'Institut Pasteur de Hong Kong (HKU-PRC) a développé un système de production de pseudo-particules virales de dengue pour les quatre sérotypes de Dengue. Ces pseudo-particules, également appelées « virus-like particles » (VLP) sont produites par la co-expression des protéines d'enveloppe pré-M et E du virus en cellules humaines. Des lignées stables produisant de façon stable les VLP ont été établies pour les sérotypes 1, 2 et 3. Il a été démontré que les VLP suivent un processus d'assemblage et de maturation similaire à celui du virus natif. Les VLP, uniquement composées des glycoprotéines virales d'enveloppe sont une source d'antigènes natifs et non infectieux qui ont été proposées pour le développement de candidats vaccins et de tests de diagnostic pour un nombre croissant de virus. L'intégration d'un système rapporteur dans ces VLP permettrait leur adaptation en test de séroneutralisation

L'objectif de ce travail est d'utiliser les VLP pour :

- Développer un test de diagnostic immunologique de la Dengue, spécifique de chacun des 4 sérotypes du virus ;
- Evaluer leurs potentiels en tant qu'antigène pour un test de type séroneutralisation.

Ces applications plus rapides, moins contraignantes et plus abordables financièrement que les tests classiques de sérotypage ou de séroneutralisation serviraient aussi bien au sérodiagnostic des malades qu'à des études séro-épidémiologiques.

Ce projet de recherche a reçu un financement de l'Action Concertée Institut Pasteur (2010) en collaboration avec l'Institut Pasteur de Hong-Kong et le CNR Arbovirus de l'Institut Pasteur.

2.2. ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX

L'IPNC est en charge du volet mise en place d'un test de diagnostic immunologique.

Des sérums IgM+/IgG- spécifiques de chaque sérotype de dengue (en fonction de l'historique des épidémies et de l'âge des patients) ont été sélectionnés de notre sérothèque et retestés pour confirmation.
Les antigènes VLP spécifiques des 4 sérotypes ont été produits à HKU-PRC, à partir des lignées cellulaires Hela-prME et purifiés par ultracentrifugation sur coussin de sucrose.
Des essais de tests IgM/IgG en ELISA indirects ont été mis au point mais les résultats ne sont pas concluants.

2.3. PERSPECTIVES

Nous envisageons en 2011 de mettre au point un test de type MAC-ELISA immunocapture. En cas de résultats satisfaisants, un criblage à plus grande échelle de la biothèque sera entrepris afin de tester des sérums de profils différents.

LES INFECTIONS RESPIRATOIRES ET PNEUMOCOQUES

1. EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES DE L'ENFANT EN NOUVELLE-CALEDONIE (PERCH-NC)

S Mermond, V Zurawski, E D'Ortenzio, I Misotte, M Dupont-Rouzeyrol, O O'Connor, C Chevalier , V Debarnot, L Besson-Léaud, J Moïsi, A Deluca, A Driscoll, AM Knoll, D Murdoch, F Feray, S Noireterre, B Duparc, O Levine.

1.1. CONTEXTE

L'étude menée par l'IPNC s'intègre dans un projet international impliquant plusieurs sites et coordonné par le Pr Orin Levine, Université Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health (JHSPH), Baltimore. Ce projet est financé par la Fondation B &M Gates.

Le projet PERCH (Pneumonia Etiology Research for Child Health) comprend 2 phases:

première phase de 2 ans déclinée selon 4 objectifs

- standardisation des méthodes de diagnostic clinique et biologique, établissement des procédures d'acquisition et de gestion des données, définition des méthodes d'analyses
- évaluation de la spécificité de nouvelles méthodes de diagnostic (MassTag PCR)
- développement de modèles mathématiques pour l'analyse et l'interprétation des données
- sélection des sites pour l'étude cas/témoin de la phase 2

deuxième phase de 4 ans: documenter l'étiologie des pneumopathies responsables d'hospitalisation chez les enfants de moins de 5 ans par une étude prospective cas/témoin menée en parallèle sur 7 sites

L'IPNC participe à la phase 1 de ce projet ; il est plus particulièrement impliqué dans les 2 premiers objectifs (standardisation des méthodes et participation à l'évaluation de la MassTag PCR).

L'objectif principal du projet PERCH est d'actualiser les données sur l'épidémiologie des pneumopathies de l'enfant dans le monde afin d'adapter au mieux les traitements et les nouvelles stratégies de prévention (vaccins).

L'objectif principal en Nouvelle-Calédonie est de décrire les étiologies des infections respiratoires basses (IRB) de l'enfant afin d'en améliorer la prise en charge. Les objectifs secondaires sont : valider les protocoles d'antibiothérapie actuellement en place à la lumière des résultats microbiologiques de l'étude (étiologies, résistances), évaluer l'intérêt de l'analyse bactériologique de l'expectoration dirigée avec manœuvres d'accélération du flux expiratoire (AFE) pour le diagnostic étiologique des IRB, évaluer l'intérêt d'une recherche virale élargie pour le diagnostic étiologique des IRB, comparer les résultats obtenus à partir des différentes méthodes de diagnostic mises en œuvre, déterminer la spécificité de nouvelles méthodes de diagnostic (PCR multiplex).

1.2. METHODES

1.2.1. CONSTRUCTION DE L'ETUDE

Il s'agissait d'une étude cas-témoin menée au CHT de Nouméa sur une période de 1 an.

Cas

Les enfants âgés de 1 mois à 15 ans hospitalisés pour infection respiratoire basse (IRB) entre janvier 2010 et janvier 2011 ont été inclus dans l'étude. Nous avons appliqué les critères de l'OMS pour distinguer les IRB sévères des IRB non sévères.

Contrôles

Enfants âgés de 1 mois à 15 ans admis au CHT (hospitalisation ou consultation) pour une raison indépendante de l'étude et appariés avec les cas sur des critères d'âge et sur la période d'hospitalisation.

Ethique

Le protocole a été approuvé par l'Institutional Review Board de l'Université Johns Hopkins, les autorités sanitaires en France (AFSSAPS, CPP Sud-Ouest et Outre-Mer III) et en Nouvelle-Calédonie.
Le consentement écrit des parents ainsi que l'assentiment de l'enfant (si possible) ont été obtenus avant inclusion dans l'étude.

Recueil des données

Les données démographiques, épidémiologiques, cliniques et radiologiques ont été recueillies au moyen de questionnaires standardisés pour les cas et les témoins. Pour suivre l'évolution de l'IRB, des données supplémentaires ont été recueillies après 48h et en fin d'hospitalisation chez les cas.

Recueil des échantillons

Les échantillons ont été recueillis rapidement après admission à l'hôpital, et avant l'administration d'antibiotiques.

Pour les cas, 2 échantillons respiratoires ont été collectés : un prélèvement naso-pharyngé - NP - (aspiration ou écouvillonnage naso-pharyngés) et une expectoration induite - EI - (obtenu au cours de manœuvres de kinésithérapie respiratoire avec accélération du flux expiratoire et toux provoquée). Un prélèvement sanguin a également été réalisé pour mise en culture, sérologie (sérum précoce et sérum tardif après 4 à 6 semaines), détection d'une activité antibiotique du sérum et dosage des marqueurs inflammatoires. Un prélèvement d'urines a été collecté pour la recherche d'antigènes de *L. pneumophila*.

Pour les témoins, un prélèvement naso-pharyngé a été effectué et traité selon le même processus que celui des cas ; un prélèvement sanguin pour sérologies précoce et tardive a aussi été réalisé.

Méthodes de diagnostic

L'ensemble des prélèvements respiratoires a été mis en culture. Les résultats de la culture des expectorations induites ont été interprétés selon les critères de la Société Française de Microbiologie. Les bactéries atypiques (*Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydophila pneumoniae*) ainsi que *Bordetella pertussis* ont été recherchées dans ces prélèvements par PCR.
Nous avons également utilisé ces prélèvements respiratoires pour la recherche de virus par immunofluorescence (IF) et au moyen d'une PCR multiplex (détection simultanée de 18 virus).
Une bactériémie a été recherchée par la réalisation d'une hémoculture systématique. De la même façon la recherche d'une infection par *Legionella pneumophila* a été effectuée systématiquement par recherche d'une excrétion urinaire d'antigène.
La recherche d'IgM anti-*M pneumoniae* a été effectuée grâce à un test commercial.
La recherche d'une activité antibiotique du sérum a été réalisée systématiquement en testant l'activité du sérum précoce sur une souche de *Staphylococcus aureus* multisensible.

1.2.2. DEFINITIONS

Critères pour l'attribution d'une étiologie

Pour les cas, une infection virale a été retenue quand un virus a été détecté dans un prélèvement respiratoire (EI et/ou prélèvement NP) par IF ou PCR multiplex. Une infection bactérienne a été retenue quand (i) un pathogène respiratoire classique a été isolé à partir d'une hémoculture ou d'une expectoration induite de bonne qualité, (ii) une excrétion urinaire d'antigènes de *L. pneumophila* a été objectivée, (iii) la PCR pour la détection de *M pneumoniae, C. pneumoniae* ou *B pertussis* était positive sur un prélèvement respiratoire (iv) des IgM anti- *M. pneumoniae* étaient mises en évidence à un taux suffisant.

Pour les témoins, un portage rhinopharyngé a été retenu quand (i) un pathogène respiratoire classique a été mis en évidence dans le prélèvement NP par culture, IF, PCR ou PCR multiplex (ii) des IgM anti- *M pneumoniae* étaient mises en évidence à un taux suffisant.

Classification des étiologies

Les étiologies ont été catégorisées comme (i) infections mono-virale ou mono-bactérienne lorsqu'un seul pathogène a été identifié (ii) infections mixte virale ou mixte bactérienne lorsque plusieurs pathogène d'une de ces catégories (virus ou bactérie) étaient détectés simultanément chez un même patient (iii) infections mixte virale et bactérienne quand virus et bactéries étaient détectés simultanément chez un même patient.

1.3. RESULTATS

1.3.1. PATIENTS

Durant l'année d'étude, nous avons inclus 108 enfants hospitalisés pour infection respiratoire basse (IRB) - 69 cas de bronchiolite et 39 cas de pneumopathie - et 22 témoins. Environ 80% des patients (86/108) ont reçu des antibiotiques au cours de leur hospitalisation (95% des pneumopathies et 71% des bronchiolites). Ce traitement comportait au moins une béta-lactamine pour 84 enfants ; seuls 2 enfants ont bénéficié d'une monothérapie par macrolide.

L'ethnie mélanésienne était surreprésentée dans la population d'étude par rapport à la population globale (64,2% *vs* 44,1%, $p < 0,001$). La moyenne d'âge était plus faible chez les enfants avec une IRB sévères ($p = 0,036$).

La durée d'hospitalisation allait de 2 à 17 jours, avec une médiane à 5 jours. Un seul enfant a nécessité une prise en charge en réanimation. Il n'y a pas eu de décès parmi les patients inclus dans l'étude.

Parmi les prélèvements collectés, nous avons pu recueillir une expectoration induite pour 92% des cas, avec en plus un prélèvement naso-pharyngé chez 98% d'entre eux. L'expectoration induite était de bonne qualité dans 26% des cas.

De façon notable, une activité antibiotique du sérum a pu être mise en évidence chez 26 enfants présentant une IRB (28%).

1.3.2. ETIOLOGIES DES IRB

Les investigations microbiologiques mises en œuvre ont permis d'établir un diagnostic étiologique pour 87% des patients, avec un taux significativement plus élevé chez les bronchiolites ((92,7% *vs* 76,9%, $p < 0,019$). Un virus a été mis en évidence chez 89 enfants (82,4%) et une bactérie chez 31 enfants (28,7%). L'infection était monomicrobienne pour 48 patients et polymicrobienne chez 46 patients (Figure 1). Au total, nous avons identifié 119 virus et 35 bactéries. Les virus les plus fréquemment identifiés étaient : le virus respiratoire syncytial - VRS - (n = 47), le rhinovirus (n = 37) et l'adénovirus (n = 8). Pour les bactéries, il s'agissait de *Mycoplasma pneumoniae* (n = 19), *Haemophilus influenzae* (n = 6) et *Moraxella catarrhalis* (n = 6).

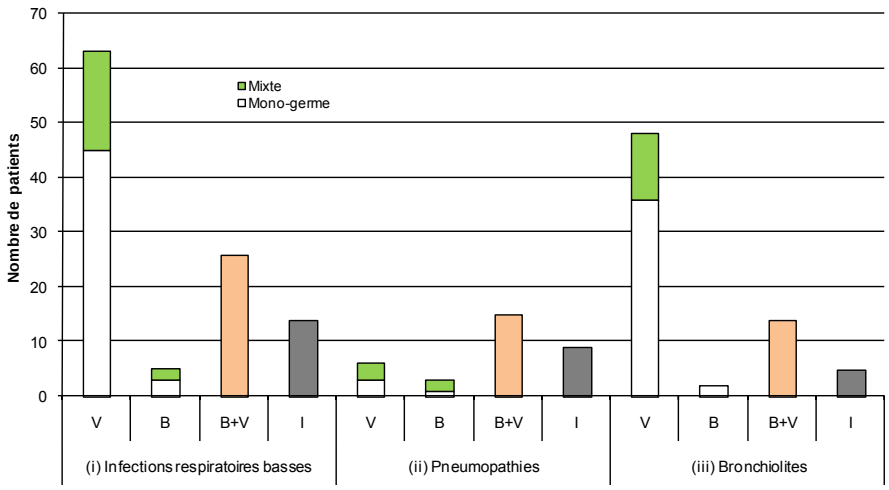


Figure 1. Etiologies des infections respiratoires basses en Nouvelle-Calédonie (i) chez 108 enfants hospitalises pour IRB, (ii) chez 39 enfants hospitalises pour pneumopathie (iii) chez 69 enfants hospitalises pour bronchiolite. V, infection virale; B, infection bactérienne; B+V, infection mixte bactérienne et virale; I, étiologie indéterminée.

La plupart des bactéries ont été détectées par sérologie (n = 18), 3 par PCR et 14 par culture (13 à partir d'une expectoration induite, et 1 dans une hémoculture). Pour les virus, 42 ont été identifiés par immunofluorescence et 108 par PCR. Les techniques de PCR réalisées sur les prélèvements d'EI ont permis d'identifier 99 pathogènes (97 virus et 2 bactéries).

Nous avons noté un pic dans l'incidence des IRB et particulièrement des bronchiolites durant la fin de la saison chaude et humide, entre mars et juin (figure 2). Cette augmentation était liée à une épidémie à VRS. Les 4 virus grippaux (de type B et C) ont été mis en évidence entre août et septembre (hiver austral).

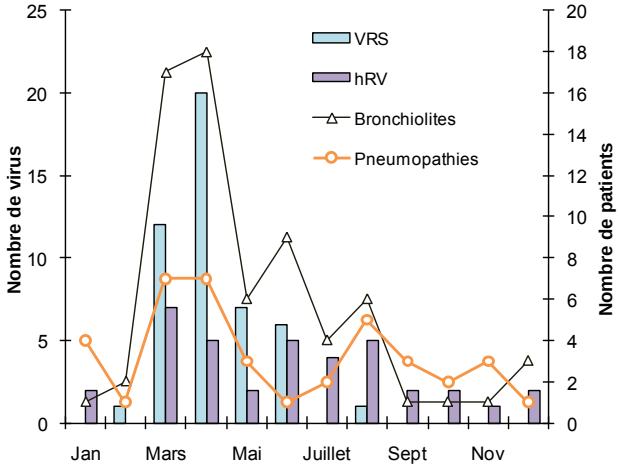


Figure 2. Distribution saisonnière des infections à virus respiratoire syncytial (VRS) et rhinovirus (hRV) chez les enfants hospitalisés pour infection respiratoire basse en Nouvelle-Calédonie.

Un antécédent de prématurité était retrouvé chez 6 des 47 enfants avec une infection à VRS et chez 3 des 35 enfants avec une IRB sévère associée au VRS. Les infections sévères étaient plus fréquentes chez les enfants avec un VRS identifié (74,5% *vs* 56,7%) même si elles apparaissaient non significatives dans notre étude (p = 0,056).

1.3.3. RESULTATS OBTENUS CHEZ LES TEMOINS

Pour chaque cas nous avons tenté d'inclure 1 témoin apparié sur l'âge et la période d'hospitalisation mais les inclusions ont été laborieuses notamment en raison des difficultés pour obtenir le consentement écrit des parents.

Nous avons ainsi inclus 22 témoins entre février et novembre 2010 et nous avons retrouvé au moins 1 pathogène chez 13 (59,1%) d'entre eux. Une colonisation par 1 bactérie était retrouvée chez 6 enfants, par un virus chez 4 enfants et 3 avaient une colonisation mixte associant virus et bactérie.

La mise en culture du prélèvement NP a permis d'isoler 8 bactéries chez 7 enfants: *M. catarrhalis* (n = 2), *S. pneumoniae* (n = 2), *Staphylococcus aureus* (n = 2), and *M. catarrhalis* + *S. pneumoniae* (n = 1). Nous avons par ailleurs identifié 9 virus chez 7 enfants : Rhinovirus (n = 5), VRS (n = 2), Métapneumovirus (n = 1), virus parainfluenza type 1 (n = 1). Les IgM anti *M. pneumoniae* étaient positives chez 2 enfants.

1.3.4. COMPARAISON DES RESULTATS DE L'ANALYSE DES EI ET DES PRELEVEMENTS NP OBTENUS CHEZ UN MEME ENFANT

Pour la détection des virus, la corrélation entre les résultats de l'EI et ceux du prélèvement NP était le plus souvent excellente (kappa 0,81 - 1,00). Elle était bonne pour la détection des PIV, entérovirus et métapneumovirus (hMPV) et moyenne pour la détection des adénovirus et coronavirus (CoV).

Pour la détection des bactéries responsables d'infections respiratoires, la corrélation entre la culture d'une EI de bonne qualité et la culture du prélèvement NP apparié était : excellente pour *Chlamydophila pneumoniae* et moyenne ou faible pour les autres bactéries.

1.4. DISCUSSION

Il s'agit de la première description des étiologies des IRB en Nouvelle-Calédonie. Nous avons ainsi pu mettre en évidence une étiologie bactérienne et/ou virale chez 87% des patients, ce qui est comparable avec les données de la littérature. Ce bon rendement est du surtout à la détection d'un nombre important de virus (virus présent chez 82,4% des enfants). Ceci conforte le rôle essentiel joué par les virus dans les IRB de l'enfant et l'importance des méthodes moléculaires pour le diagnostic de ces agents pathogènes. Les bactéries ne représentaient pour leur part que 22,7% des germes détectés, ce qui pourrait être une conséquence du profil des patients inclus. Il s'agissait en effet d'enfant souvent jeunes (<2ans), et près de 2 enfants sur 3 avaient un diagnostic de

bronchiolite dont l'origine est souvent essentiellement virale. Cela peut être également le reflet de la faible sensibilité des méthodes de diagnostic bactériologique et notamment de la culture.

En ce qui concerne les infections d'origine virale, 4 faits marquants ont pu être mis en évidence pendant cette année d'étude. La mise en œuvre de nouveaux outils de diagnostic moléculaire (PCR multiplex) a permis de détecter des virus qui jusqu'à présent n'avaient pas été décrits en Nouvelle-Calédonie (hMPV, CoV, Bocavirus -BoV-). Il est apparu également que les infections à VRS survenaient de façon épidémique à la fin de la saison chaude et humide et au début de la saison fraîche, favorisées par la vie en collectivité (début de l'année scolaire) et les voyageurs de retour de l'hémisphère nord (saison hivernale avec circulation active des virus respiratoires). Troisième point, la distribution saisonnière des infections par le virus de la grippe chez l'enfant correspond à ce qui a été décrit préalablement chez l'adulte, ces infections survenant entre juin et septembre. Dernière observation, le rhinovirus apparaît comme un agent étiologique important dans les IRB de l'enfant avec des infections qui surviennent tout au long de l'année.

Plusieurs facteurs laissent à penser que nous avons probablement sous-estimé la part des infections bactériennes. Les faibles volumes de sang que l'on peut prélever chez l'enfant, associés au fait que beaucoup de pneumopathies ne sont pas associées à une bactériémie limitent la portée diagnostique des hémocultures. Dans notre étude nous avons obtenu finalement assez peu de prélèvements d'EI de bonne qualité malgré l'attention que nous avons porté à ce prélèvement. Pour finir, toutes les méthodes de diagnostic basées sur la culture ont pu être influencées par une prise préalable d'antibiotique puisque, dans cette étude, une activité antibiotique du sérum à l'admission était retrouvée chez 28% des enfants. Il est à ce titre intéressant de noter que pour 3 enfants admis pour une pneumopathie et avec une activité antibiotique du sérum positive, nous n'avons pu mettre en évidence aucune bactérie malgré une PCT > 0,5 ng/ml.

Globalement, les résultats obtenus à partir de l'EI et du prélèvement NP apparié montraient une bonne corrélation pour la détection des virus. Ceci montre que l'infection virale est souvent diffuse à tout l'arbre respiratoire et que l'EI peut être un prélèvement intéressant dans quelques cas d'infection virale (pour 7 enfants inclus dans notre étude, le virus était retrouvé dans l'EI et pas dans le prélèvement NP apparié). La question se pose par ailleurs de savoir si la détection d'un virus dans le prélèvement NP uniquement est suffisante pour l'incriminer dans le processus infectieux puisqu'un portage rhinopharyngé était par ailleurs retrouvé chez près d'un tiers des témoins sans infection respiratoire.

1.5. CONCLUSIONS

Notre étude a permis, grâce à la mise en oeuvre de nouvelles techniques moléculaires, de mettre en évidence la part importante des agents viraux dans l'étiologie des IRB de l'enfant en Nouvelle-Calédonie. Des virus de découverte récente ont par ailleurs été mis en évidence pour la première fois en Nouvelle-Calédonie (hMPV, BoV, CoV).

Des facteurs limitants pour l'établissement du diagnostic étiologique des IRB ont également été clairement retrouvés. Il s'agit tout d'abord de la difficulté d'obtenir un prélèvement de bonne qualité pour la mise en culture et l'analyse bactériologique, avec toujours un risque de faux négatif si le patient a été mis sous antibiotique avant la réalisation des prélèvements à visée diagnostique. Enfin, la distinction entre colonisation et infection reste difficile, particulièrement chez l'enfant.

2. SEROTYPES ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE PNEUMOCOQUES EN NOUVELLE-CALEDONIE

E. Chalus, O. O'Connor, E. D'Ortenzio, S. Mermond

2.1. CONTEXTE

Streptococcus pneumoniae est une bactérie à Gram positif essentiellement humaine. Hôte naturel des voies respiratoires supérieures, le pneumocoque est un des pathogènes les plus virulents parmi les bactéries responsables d'infections humaines.
Cause majeure d'infections invasives communautaires telles que les méningites et les bactériémies, le pneumocoque est également à l'origine d'infections non invasives très fréquentes comme les pneumopathies ou les otites moyennes aiguës. Ces infections représentent aujourd'hui un problème de santé publique de par leur fréquence et leur gravité potentielle. Elles touchent toutes les fractions de la population, mais représentent un poids plus important en termes de mortalité et de morbidité chez les enfants de moins de 2 ans et les personnes âgées. Dans les pays en voie de développement, l'importance des infections invasives à pneumocoque est considérable.
Le pneumocoque est naturellement sensible à de nombreux antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram positif. Cependant, depuis une quinzaine d'années, l'émergence et la diffusion de la résistance des pneumocoques à la

pénicilline, ainsi que l'apparition de souches multirésistantes, sont observées à travers le monde, notamment en raison d'un mésusage des antibiotiques. En 2008, 32% des infections invasives impliquaient un pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) associant dans 85% des cas une résistance aux macrolides. La multi-résistance, définie chez le pneumocoque par la résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques, concerne 27% de l'ensemble des souches étudiées par le Centre National de Référence des Pneumocoques.
La prévention des infections invasives à pneumocoque passe actuellement par la vaccination : le Prévenar 13®, vaccin polysaccharidique conjugué à 13 valences (PCV13) remplaçant le Prévenar 7® (PCV7) depuis 2010, est recommandé chez le nourrisson à partir de 2 mois et le Pneumo23® chez l'adulte présentant certains facteurs de risque.

En Nouvelle-Calédonie, une étude a été réalisée en 2002 chez les enfants sains âgés de 2 à 24 mois, avant l'introduction du Prévenar 7® sur le territoire. Elle a mis en évidence un taux de portage rhinopharyngé de *S. pneumoniae* de 52 %, dont 21 % étaient de sensibilité diminuée à la pénicilline. La concordance entre les sérotypes vaccinaux contenus dans le PCV7 et ceux des souches de portage était faible (46,9 %) ; elle était meilleure chez les Européens (77 %) que chez les Mélanésiens (43 %).
Une étude de 2009 démontre que le taux de portage a significativement diminué de 52 % en 2002 à 42,1 % en 2008. Les sérotypes en cause ont aussi évolués : le portage des sérotypes vaccinaux a très significativement diminué (22,2 % vs 46,9 %) au profit des sérotypes non vaccinaux. De plus, certains sérotypes sont apparus plus résistants depuis l'introduction du PCV7, principalement les sérotypes 19F, 19A et 15B.
L'étude réalisée avant introduction de la vaccination, sur l'épidémiologie des infections pneumococciques en Nouvelle-Calédonie, avait mis en évidence que les sérotypes les plus fréquemment associés aux infections invasives à pneumocoque étaient les sérotypes 1, 12F, 19F, 23F et 6B, ces deux derniers étant prédominants chez les enfants de deux ans.
Avec une diminution significative du portage des sérotypes 6B et 23F observée lors de l'étude de 2009, un impact favorable du vaccin sur les infections invasives à pneumocoque chez les jeunes enfants pourrait être envisagé.
Les 1ères doses de Prévenar7 ont été distribuées en Nouvelle-Calédonie en 2004.
Cette vaccination est rentrée dans le calendrier vaccinal en 2006 (vaccin recommandé), et en se basant sur le ratio entre les doses délivrées et les naissances recensées annuellement, la couverture vaccinale est actuellement estimée à 97-98%.

Il apparaît donc intéressant d'étudier les souches de pneumocoques isolées ces dernières années afin d'apprécier ce glissement pressenti des sérotypes responsables des infections invasives et non invasives suite à la mise en place de la recommandation vaccinale de 2006 par le PCV7.

2.2. ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX

L'ensemble des souches de pneumocoques isolées par le Laboratoire de Bactériologie de l'IPNC ainsi que celles transmises par le Centre Hospitalier Territorial (CHT) du Nord et les laboratoires privés participant à l'ORP-NC sont conservées dans la collection de l'IPNC.
Les souches de pneumocoque peuvent être classées en trois catégories selon leur site d'isolement : i) invasives lorsqu'elles sont isolées de sites normalement stériles (liquide céphalo-rachidien, hémoculture, liquide pleural, liquide articulaire, …), ii) respiratoires si isolées d'un prélèvement respiratoire (crachat, aspiration bronchique, LBA, prélèvement distal protégé) et iii) autres pour les autres prélèvements (vaginal, abcès, …).
Le tableau 1 fait état des souches recensées entre le 01/01/2007 et le 31/12/2010.

Tableau 1 : Nombre de pneumocoques recensés à l'IPNC entre 2007 et 2010

	Nombre de PNO isolés				
	Total	**Invasifs**	**Respiratoires**	**Oreilles**	**Autres**
2007	213	71	117	8	17
2008	274	105	145	10	14
2009	302	112	147	18	25
2010	251	69	163	6	13

L'identification des souches de pneumocoques a été initialement effectuée sur la base de leurs caractères culturaux (morphologie des colonies, caractère α-hémolytique), de leur aspect à la coloration de Gram (diplocoques à Gram positif), de leurs caractères biochimiques (catalase négative, carte GP VITEK2 et/ou galerie API RAPID ID32 STREP, Biomérieux), de leur sensibilité à l'optochine (diamètre ≥ à 15 mm) et par leur positivité au test d'agglutination de particules de latex spécifiques (Slidex Pneumo-kit, Biomérieux).

Toutes les souches de pneumocoques isolées en 2009 et 2010 seront étudiées, soit approximativement 553 souches. Lors de leur mise en culture, l'identification des souches de *S. pneumoniae* sera confirmée par un nouveau test de sensibilité à l'optochine ainsi que par la vérification de leur solubilité dans la bile.
En cas de résistance à l'oxacilline (diamètre < à 26 mm), la résistance aux béta-lactamines sera confirmée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice pour la pénicilline, l'amoxicilline et le céfotaxime.

Le sérogroupe des souches étudiées sera déterminé par un test d'agglutination (Pneumotest-latex, Statens Serum Institut, Danemark).
Le sérotype de l'ensemble des souches sera déterminé par 2 méthodes :
- la méthode de référence par gonflement capsulaire (réaction de Quellung), réalisée par le laboratoire de référence du pneumocoque de Westmead (Australie) dirigé par le Dr Shahin Oftadeh
- une méthode moléculaire par PCR multiplex qui sera mise en place à l'IPNC à cette occasion.

2.3. PERSPECTIVES

- Décrire les sérotypes circulants parmi les souches de pneumocoque recueillies par l'IPNC et notamment pour l'ensemble des souches invasives isolées en NC,
- Décrire l'antibiorésistance des souches de pneumocoque circulantes,
- Evaluer l'impact de la vaccination par le PCV7 sur les infections invasives et non-invasives,
- Estimer la concordance des sérotypes circulants avec le PCV13.
- Mettre en place un outil moléculaire pour le sérotypage des souches de pneumocoque en NC.

3. RESISTANCE DES PNEUMOCOQUES AUX MACROLIDES EN NOUVELLE-CALEDONIE

S. Mermond, O. O'Connor, R. Dufourcq, M. Dupont-Rouzeyrol

3.1. CONTEXTE

Le traitement des infections à pneumocoque peut parfois être problématique puisque sous l'effet d'une pression antibiotique importante nous avons assisté ces 20 dernières années à l'apparition de souches de pneumocoque résistantes voire même multi-résistantes - 43 % des souches analysées en France en 2003. Cette pression antibiotique s'exerce sur les souches isolées au cours d'infections mais aussi sur les souches de portage. En Nouvelle-Calédonie, le portage rhinopharyngé du pneumocoque concerne près de 40 % des enfants sains de moins de 2 ans et environ 30 % de ces souches présentent une sensibilité diminuée à la pénicilline. Dans ce contexte, le suivi de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques s'avère nécessaire.
Parmi l'ensemble des résistances décrites pour cette espèce, la résistance aux macrolides interpelle à plusieurs titres : il s'agit tout d'abord d'un mécanisme de résistance fréquent (46 % des souches isolées en France en 2005 étaient résistantes à l'érythromycine), notamment parmi les souches multi-résistantes. La résistance aux macrolides est ainsi la résistance le plus souvent associée à la résistance aux β-lactamines puisque 83,5 % des Pneumocoques de Sensibilité Diminuée aux Pénicillines (PSDP) sont aussi résistants aux macrolides contre seulement 15,5 % chez les souches sensibles à la pénicilline. Il apparaît aussi que les mécanismes de résistance sont multiples avec une distribution variable selon les pays : (1) modification de la cible par méthylation ribosomale sous la dépendance du gène *ermB* prédominant en France (phénotype MLS_B), (2) efflux actif sous la dépendance du gène *mefA* prédominant en Amérique du Nord (phénotype M), (3) mutations ribosomales beaucoup plus rares (phénotypes variables).
Chez *S. pneumoniae* l'expression de la résistance liée au gène *ermB* est le plus souvent inductible mais peut également être constitutive (la télithromycine n'es alors plus active). Dans les 2 cas, le phénotype MLS_B qui en résulte se traduit par une résistance croisée à l'ensemble des Macrolides (à 14, 15 et 16 atomes de carbone), Lincosamides et Streptogramines du groupe B. La résistance de phénotype M sous la dépendance du gène *mefA* touche uniquement les macrolides à 14 et 15 atomes de carbone. L'étude phénotypique, et notamment la recherche d'une image d'antagonisme entre un disque d'érythromycine et un disque de lincosamide, reste indispensable pour différencier les souches de phénotype MLS_B inductible ($iMLS_B$) qui peuvent apparaître faussement sensibles aux lincosamides (une image d'antagonisme entre un disque d'érythromycine et un disque de lincosamides étant alors révélatrice du phénotype $iMLS_B$) des souches de phénotype M (sensibilité aux lincosamides sans image d'antagonisme).
Nous nous proposons d'étudier la résistance aux macrolides pour les souches de pneumocoque isolées au laboratoire de bactériologie de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie entre le 1er juillet 2008 et le 30 juin 2009 afin de préciser la prévalence de cette résistance, de déterminer la distribution phénotypique et génotypique et de décrire les sérotypes portant cette résistance.

3.2. ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX

Toutes les souches de *S. pneumoniae* isolées au laboratoire de bactériologie de l'IPNC entre le 01/07/2008 et le 30/06/2009 (n = 238) ont été analysées afin d'étudier leur sensibilité à l'érythromycine. Les souches résistantes à l'érythromycine - diamètre < 21 mm, catégorisation clinique I+R selon le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009) - ont alors été testées à nouveau pour :
- confirmer la résistance aux macrolides par détermination de la CMI à l'érythromycine,
- étudier le phénotype de résistance aux macrolides ($cMLS_B$, $iMLS_B$, M),

- déterminer le génotype des souches résistantes,
- déterminer leur sérotype.

Parmi les 238 souches étudiées, 41 (17,2%) sont résistantes à l'érythromycine.
La majorité des souches résistantes (n = 40) présentent un phénotype MLS_B d'expression inductible -$iMLS_B$- (sensibilté à la télithromycine conservée), sauf une qui exprime un phénotype M.
Les génotypes retrouvés sont les suivants :
- pour les 40 souches de phénotype $iMLS_B$, 29 possèdent le gène *ermB* et 11 ont les 2 gènes de résistance *ermB* et *mefA*,
- la souche de phénotype M possède les 2 gènes de résistance (*ermB* et *mefA*) malgré son faible niveau de résistance et l'absence d'antagonisme entre les disques d'érythromycine et de lincomycine ou clindamycine.

Les sérotypes 19F et 19A sont nettement majoritaires parmi les souches résistantes aux macrolides.
La distribution des sérotypes en fonction des génotypes est donnée dans le tableau 1.

Sérotype	Nombre (%) de souches	Nombre de souches selon le génotype	
		ermB	*ermB* + *mefA*
19F	14 (34,1)	10	4
19A	11 (26,8)	8	3
6A	1 (2,4)	0	1
6B	2 (4,8)	1	1
6C	2 (4,8)	2	0
10A	2 (4,8)	1	1
14	1 (2,4)	1	0
15A	2 (4,8)	2	0
9N	1 (2,4)	1	0
9V	1 (2,4)	1	0
12F	1 (2,4)	0	1
Non sérotypés	3 (7,3)	2	1
Total	41 (100,0)	29	12

3.3. PERSPECTIVES

L'étude du profil de sensibilité de nos souches vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques (pénicilline G, cotrimoxazole, tétracycline, chloramphénicol) permettra de préciser la multirésistance associée à la résistance aux macrolides et de déterminer les sérotypes incriminés.

BIO-PROSPECTION ET BIODIVERSITE DE MICRO-ORGANISMES DES MILIEUX EXTREMES DES LAGONS DE LA NOUVELLE-CALEDONIE

E. Chalkiadakis, R. Dufourcq, M. Dupont-Rouzeyrol, Y. Labreuche, S. Chanteau, L. Loubersac, J. Guézennec, C. Simon-Colin

1. CONTEXTE

Il s'agit d'une thématique de recherche totalement nouvelle pour l'IPNC. Le projet, initié par l'Ifremer de Brest et de Nouméa en collaboration avec l'IPNC, a reçu un financement du Ministère de l'Outre-mer (2009) pour la constitution de la collection de bactéries. Une convention de collaboration a été signée entre l'Ifremer (Brest/Nouméa) et l'Institut Pasteur (Paris/Nouméa).

Les biotechnologies marines suscitent un grand engouement principalement lié à la richesse de la biodiversité marine, exploitable maintenant grâce aux avancées considérables des technologiques physiques, chimiques, et de biologie moléculaire. Le compartiment microbien, et notamment les bactéries, longtemps négligé en raison de verrous technologiques, constitue un réservoir qui a été peu exploré jusqu'à présent (0,1% - 1% des espèces microbiennes présentes dans les écosystèmes marins) et qui pourrait s'avérer être le principal gisement de nouvelles molécules d'intérêt biotechnologique des prochaines décennies.
Les microorganismes adaptés à des habitats atypiques (hydrothermalisme sous-marin, mares à kopara des atolls polynésiens, …) ont développé des stratégies adaptatives très variées leur permettant de survivre et de se développer dans des conditions environnementales hostiles. Ces microorganismes « extrêmophiles » présentent un répertoire de voies métaboliques utilisant des biomolécules originales (enzymes, biopolymères, métabolites secondaires…) dont les propriétés ont très vite attiré l'attention des opérateurs en biotechnologie. Les applications de ces biomolécules concernent de nombreux secteurs industriels et répondent pour certaines d'entre elles à des demandes sociétales fortes. Ainsi on peut voir les applications suivantes :

- dans le domaine de la santé : recherche de métabolites secondaires bioactifs avec applications dans les domaines de l'oncologie, des maladies infectieuses ou neurodégénératives, développement des biomatériaux ;
- dans les domaines de l'environnement et de l'industrie : la dépollution et la réhabilitation des sols, de l'eau et des effluents, à l'aide de techniques microbiennes (bio-remédiation, bio-détoxification,…), la bio-lixiviation utilisée en hydrométallurgie et en exploitation des minerais, la diminution des ressources fossiles (substitutifs à un ensemble de polymères d'origine pétrochimique comme les colles et adhésifs) ;
- dans le domaine de l'alimentation et de l'aquaculture
- dans le domaine de la cosmétique et du « packaging » : recherche de produits actifs d'origine naturelle, d'additifs (agents de rhéologie), de produits d'emballage biodégradables respectant les ressources renouvelables ;
- dans le domaine des bioénergies : production de bioéthanol et de biocarburants.

Mais parmi les molécules les plus attrayantes d'un point de vue développement industriel s'inscrivant dans le court et moyen terme, il convient de noter en tout premier lieu, les bio-polymères bactériens et plus spécifiquement les exopolysaccharides (EPS) ou les polyhydroxyalcanoates (PHA). Les EPS peuvent être définis comme de longues molécules formées de l'enchaînement de motifs glucidiques. Ces EPS représentent une famille de bio-polymères dont la diversité de structure offre un large spectre de propriétés fonctionnelles. Ces macromolécules peuvent trouver de nombreuses applications soit à l'état natif soit après des modifications visant à conférer à ces polysaccharides les activités recherchées où à rendre leur forme en adéquation avec des applications thérapeutiques. Les PHA sont des composés de réserve bactériens et sont formés de polyesters linéaires à plus ou moins longue chaine. Ils sont plus particulièrement utilisés dans la formation de plastique biodégradable ou de biomatériaux.

Par sa situation géographique, son climat, la variété de ses faciès côtiers et leur étendue, la richesse de sa biodiversité marine, et l'originalité de sa formation géologique, la Nouvelle-Calédonie est dotée de milieux naturels littoraux, côtiers et marins au sein desquels existent des gradients thermiques, d'hypersalure/dessalure, de chocs UV, de PH, d'évaporation, d'inondation/exondation…. Ceux-ci déterminent des habitats atypiques dans lesquels les micro-organismes doivent développer des stratégies adaptatives et de défense potentiellement uniques. C'est afin d'identifier ces bactéries et les molécules produites pour survivre dans ces environnements atypiques, et d'en exploiter le potentiel biotechnologique que la première mission de bioprospection a eu lieu.

Figure 1 : Diversité des milieux atypiques de Nouvelle-Calédonie (tanne salée, mangrove à palétuviers)

2. ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX

L'étude de la biodiversité microbienne et son exploitation biotechnologique passe nécessairement par la constitution d'une collection de ces microorganismes (souchothèque). A partir de celle-ci, de nombreuses études pourront être engagées notamment sur la recherche de bio-polymères.

La première campagne de prospection, réalisée en avril 2010, a permis le prélèvement de 205 échantillons (tableau 1) qui ont abouti à une collection de 493 isolats bactériens.

Tableau 1 : Origine des prélèvements de la mission de bioprospection d'avril 2010

floc	0,61%
algues	9,13%
invertébrés	17,24%
coraux	1,83%
éponges	4,06%
plantes/arbres/fruits/mousses	15,82%
poissons	1,22%
biofilms	24,14%
eau / flaques	0,81%
non déterminé	9,74%
sédiments	15,42%

Le criblage de cette collection a permis d'identifier un nombre significatif de souches aptes à produire des EPS (Figure 2). Ainsi sur 493 souches, 58% avaient la capacité de produire des EPS sur milieu sélectif dont 25 souches ont été définies à haut potentiel de production d'EPS (Tableau 2).

Tableau 2 : Résultat du criblage pour l'activité EPS des 493 isolats bactériens (les notations +1, +2, +3 correspondent aux capacités de production des EPS)

Résultat du criblage	négatif	+1	+2	+3
Nombre d'isolats	208	142	118	25
Pourcentage	42%	28,51%	23,70%	5,07%

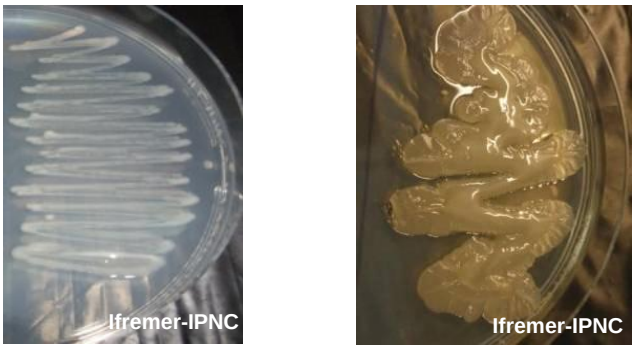


Figure 2 : Criblage de souches productrices d'EPS réalisé par la mise en culture adaptée et l'apparition de colonies mucoïdes (photo de droite)

Les premières analyses de caractérisation chimique de 6 des 25 isolats les plus producteurs indiquent des compositions chimiques intéressantes suggérant des applications pour ces nouveaux biopolymères.

De même, un criblage de l'activité anti-bactérienne des 493 isolats est en cours. Ainsi, un certain nombre de souches ont montré une activité-bactérienne contre des bactéries pathogènes pour l'homme et les crevettes (Figure 3).

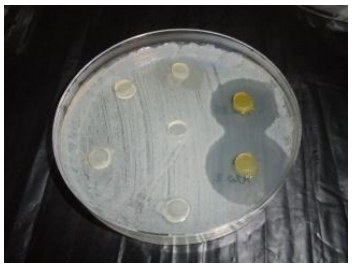


Figure 3 : Inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* par deux isolats calédoniens.

3. PERSPECTIVES

De cette collaboration étroite Ifremer/IPNC, est attendu un transfert du savoir-faire de Brest en Nouvelle-Calédonie (IPNC, Ifremer NC) avec la formation de spécialistes locaux en partenariat avec l'Université de la Nouvelle Calédonie. C'est dans cet optique que le doctorant en co-direction Ifremer/IPNC doit aller se former au tout début de l'année 2011 à l'Ifremer Brest sur les techniques de fermentation, production, purification et caractérisation biochimique (tests colorimétriques, analyse par spectrométrie infra-rouge, RMN…) des biopolymères.

L'enrichissement de cette collection de bactéries d'autres milieux atypiques devrait se poursuivre avec une 2ème campagne de bio-prospection Ifremer/IPNC en 2011. En parallèle, l'Ifremer et l'IPNC souhaitent poursuivre leur projet initial dans une finalité d'applications industrielles, par:

- l'isolement et la caractérisation des exopolysaccharides et polymères biodégradables issus des bactéries déjà identifiées.
- la caractérisation des molécules anti-bactériennes et de métabolites secondaires bioactives pour des applications principalement dans le domaine de la santé.

Ces travaux seront à mener en partenariat avec d'autres organismes de recherches ou des opérateurs privés si possible implantés localement, dans un objectif de valorisation.

UNITE EPIDEMIOLOGIE DES MALADIES INFECTIEUSES

Responsable (depuis le 20 septembre 2010) :
Eric D'ORTENZIO médecin-épidémiologiste, MD, MSc,

Personnel :
Rachèl DAMBREVILLE, secrétaire médicale

Collaborateurs IPNC
- Cyrille GOARANT, bactériologiste et vétérinaire, LRB
- Sylvain MERMOND, médecin-biologiste, LEM
- Ann Claire GOURINAT, pharmacien biologiste, LABM-virologie
- Myrielle DUPONT, chercheur, virologiste, LEM
- Régis GOURSAUD, médecin biologiste, LABM-bactériologie
- Laurent GUILLAUMOT, entomologiste, Laboratoire d'entomologie médicale

Collaborateurs locaux
- Marc MIKULSKI, Service de Réanimation / Soins intensifs, Centre Hospitalier Territorial, Nouméa
- Flore LACASSIN, Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Territorial, Nouméa
- Isabelle MISSOTTE, Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Territorial, Nouméa
- Corinne JOUBERT, Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Territorial, Nouméa
- Bernard ROUCHON, ASS

- Le Service des Actions Sanitaires de la DASS-NC : Jean-Paul GRANGEON, Sylvie LAUMOND, Anne PFANNSTIEL, Martine NOEL.

Le laboratoire d'épidémiologie prend le nom d'Unité d'Epidémiologie des Maladies Infectieuses (UEMI). Le Dr E. D'ORTENZIO, depuis sa prise de fonction en septembre 2010, s'est attaché à prendre la mesure des activités de recherches en épidémiologie et santé publique, contribuer aux réflexions sur les missions de l'IPNC et l'apport de l'épidémiologie, réfléchir sur les futures actions de recherches sur la leptospirose, la dengue et le rhumatisme articulaire aigu et préparer le conseil scientifique de l'IPNC. Des contacts ont été pris avec nos principaux partenaires (DASS, CHT, ASS, DPASS, CPS, IRD) pour identifier des projets de recherche d'intérêt en santé publique ou clinique.

1. ACTIVITES DE RECHERCHE

1.1. PROJET D'ETUDE SUR LES DETERMINANTS DE LA LEPTOSPIROSE HUMAINE SEVERE EN NOUVELLE-CALEDONIE

Pour cette étude, il est prévu la venue d'une stagiaire épidémiologiste du mastère de santé publique « Risque infectieux » de l'Institut Pasteur / CNAM. L'objectif de l'étude est la recherche des facteurs de risques de survenue de leptospirose sévère en Nouvelle-Calédonie. Une demande de bourse a été soumise.
Le projet a été conçu avec le responsable du programme de recherche sur la leptospirose (C Goarant) et le protocole d'étude a obtenu l'adhésion plusieurs services du CHT (réanimation, pédiatrie, médecine interne, PMSI). Les procédures administratives (demandes d'autorisation) seront entamées en 2011.

1.2. PROJET D'ETUDE SUR LES FACTEURS DE RISQUES DE CARDIOPATHIE RHUMATISMALE CHEZ LES ENFANTS SCOLARISES EN CM1 EN NOUVELLE-CALEDONIE

L'objectif de ce travail est de déterminer les facteurs de risque de la survenue de cardiopathie rhumatismale chez les enfants en Nouvelle-Calédonie.
Le protocole d'étude a été rédigé en accord le directeur de l'agence sanitaire et sociale (ASS), futur promoteur de l'étude.

2. ACTIVITE DE SANTE PUBLIQUE

Le partenariat et la collaboration avec la Direction des affaires sanitaires et sociales de Nouvelle-Calédonie (DASS-NC) est à construire et à développer. Le nouveau projet de convention entre la Nouvelle-Calédonie,

l'Institut Pasteur et l'Etat, en cours de rédaction, précisera les termes de cette collaboration en épidémiologie dans le domaine de la santé publique et de la recherche.

La collaboration avec l'Agence Sanitaire et Sociale a débuté, notamment sur la thématique du rhumatisme articulaire aigu.

3. ACTIVITES DE SERVICE

3.1. TRAITEMENT STATISTIQUE DES DONNEES

Plusieurs traitements statistiques de données produites par différents laboratoires de l'IPNC ont été réalisés (volets descriptifs et analytiques) au cours de ces 3 premiers mois d'activités :

- Etiologies des infections respiratoires basses dans le cadre du projet PERCH pour le laboratoire d'épidémiologie moléculaire ;
- Etude de séroprévalence des anticorps anti-A(H1N1)2009 pour le laboratoire de virologie ;
- Efficacité des pièges pondoirs pour l'unité d'entomologie.

3.2. CREATION DE MASQUE DE SAISIE ET DE QUESTIONNAIRES

- Création d'une nouvelle fiche de recueil de données pour l'Observatoire Régionale du Pneumocoque (ORP) coordonnée par le laboratoire d'épidémiologie moléculaire de l'IPNC dans le cadre de la surveillance du pneumocoque en NC ;
- Création d'un masque de saisie pour l'ORP ;
- Création d'un masque de saisie pour le Service de Pédiatrie-Néonatologie du CHT dans le cadre d'une étude sur l'évaluation du suivi des enfants nés de mère porteuses de l'Antigène anti-HbS.

4. PARTICIPATION A DES CONGRES OU REUNIONS

- Participations aux réflexions sur le rôle de l'IPNC dans la santé publique et la veille sanitaire en Nouvelle-Calédonie
- Réunion des acteurs de Santé Publique de Nouvelle-Calédonie sur l'actualisation du calendrier vaccinal calédonien.
- Participation et présentation des activités de santé publique de l'IPNC lors du conseil scientifique de l'IPNC.
- Participation aux réunions préparatoires et relecture d'articles pour le projet de numéro spécial BEH Nouvelle-Calédonie.
- Participation à une réunion sur l'évolution de la stratégie de dépistage des IST en NC, sous l'égide de l'ASS.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'Unité d'Epidémiologie des Maladies Infectieuses est dans une phase de développement, de recherche de synergie avec les structures de santé publique de Nouvelle-Calédonie et d'élaboration de projets de recherche. Pour remplir nos différentes missions (recherche en santé publique, service, formation), un renforcement de l'unité sera nécessaire. En 2011, les activités devraient se développer avec:

- le recrutement d'un biostatisticien / data manager ;
- l'Accueil et l'encadrement de stagiaires en master de santé publique ou d'épidémiologie ;
- l'achat de divers logiciels d'épidémiologie et d'analyses statistiques et d'ouvrages d'Epidémiologie ;
- la réorganisation des locaux ;
- la recherche de crédits ;
- la mise en œuvre de nouveaux projets de recherche ;
- la recherche de synergie avec les structures de santé publique de Nouvelle-Calédonie ;
- le montage de collaborations locales et internationales.

AUTRES ACTIVITES

FORMATION CONTINUE DU PERSONNEL IPNC 114

FORMATION DISPENSEE PAR L'IPNC 116

PUBLICATIONS, DIFFUSION DES CONNAISSANCES, COMMUNICATIONS 117

FORMATION CONTINUE DU PERSONNEL IPNC

En fin 2010, a été créé un Comité pour la Formation Continue (CFC). Les membres, désignés pour 3 ans par leurs pairs, sont :

- 1 représentant des biologistes médicaux
- 1 surveillante laboratoire
- 2 représentants des techniciens de laboratoire
- 1 représentant du secteur de la recherche
- 1 représentant du secteur de l'administration

Le CFC a un rôle consultatif. Il est chargé de :

- Recueillir auprès du service du personnel, les demandes de formation avec les objectifs de formation, exprimées par les agents ou les chefs de service ;
- Examiner et classer les demandes par ordre de priorité selon leur adéquation avec les objectifs stratégiques de l'établissement, la pertinence des formations demandées, leur intérêt pour l'évolution de carrière du demandeur ;
- Présenter le projet de plan de formation à la Direction ;
- Etablir avec l'aide du service du personnel, le bilan de la formation de l'année antérieure en évaluant l'atteinte des objectifs fixés et en indiquant les éventuels problèmes rencontrés.

Le CFC a contribué très positivement au plan de formation 2011, adopté par la direction et le comité d'entreprise. Les formations exposées ci-après concernent l'année 2010.

1. FORMATION A L'EXTERIEUR DE LA NOUVELLE- CALEDONIE

- Manaute Carole. Formation pratique sur le diagnostic des virus respiratoires et le laboratoire P3. Institut Pasteur du Cambodge Phnom-Penh. 15 mars au 01 avril 10.
- Dupont-Rouzeyrol Myrielle. Cours de virologie systématique. IP Paris. 06 avril au 25 juin 2010.
- Urbes Florence. Microbiologie & maîtrise de la sécurité des aliments. Institut Pasteur de Lille (France). 31 mai au 11 juin 2010.
- Matsui Mariko. Cours de microbiologie générale. Institut Pasteur Paris. 01 sept. au 08 nov. 2010.
- Chalkiadakis Eleftérios. Formation aux techniques de fermentation, de production, purification et caractérisation des bio-polymères bactériens. Ifremer Brest. 27 novembre 2010 au 23 janvier 2011

2. FORMATION A NOUMEA

2.1. ANIMATION SCIENTIFIQUE INTERNE ET BIO-INFORMATION DU PERSONNEL

Sylvain Mermond, responsable des réunions de « bio-information »

- Dufourcq R. « Bio-prospection des bactéries des milieux extrêmes en Nouvelle-Calédonie : réservoir de nouvelles molécules d'intérêt biotechnologique ? ». 29 juin et 1er juillet 2010.
- Vic Marlène. « Etude de la virulence de *Vibrio penaeicida*, pathogène de crevettes d'élevage de Nouvelle-Calédonie et mise en place d'une technique d'expression génique". 29 juin et 1er juillet 2010.
- Zurawski V. « Critères morphologiques pour l'identification des cellules du sang ». 08 et 09 sept. 2010.
- Mermond S. « Règles de validation en hématologie ». 08 et 09 sept. 2010.
- Rivoire, N. « La cornée dans tous ses états : bilan à 5 ans d'un protocole de prélèvement cornéen à visée microbiologique ». 28 sept. et 07 octobre 2010.
- Cassar O, IP Paris. « L'utilisation des virus HTLV-1 et HHV-8 comme marqueurs de migration des populations anciennes en Mélanésie ». 3-4 oct. 2010.

Cyrille Goarant, responsable de l'animation scientifique à l'IPNC

- Rivoire, N. Les abcès de cornée, « Relationship Between Climate, Disease Severity, and Causative Organism for Contact Lens-Associated Microbial Keratitis in Australia » 12 octobre 2010.
- Goarant, C. La New Delhi métallo béta-lactamase et l'émergence des « super-bugs ». 9 Novembre 2010.
- Dupont-Rouzeyrol, M. Le virophage Spoutnik. 9 novembre 2010.

2.2. FORMATION PROFESSIONNELLE CONTINUE, CHSCT, QUALITE

Hygiène et sécurité

- Recyclage sauveteurs secouristes du travail (IFAP) : 4 agents
- Habilitation électrique - niveau BOV HOV (EEC) : 6 agents & 1 cadre
- Sensibilisation aux mesures d'économie d'énergie (Sté de Recherche du Pacifique) : tout le personnel
- Principes généraux de la sûreté du transport aérien : 2 agents

Démarche qualité, par le GRIEPS

- Evaluation après un an de la politique Qualité de l'IPNC, analyse du plan quinquennal qualité 2011-1015: comité Qualité.

Microbiologie alimentaire (IFAP) : 3 agents & 1 cadre

Informatique : perfectionnement EXCEL (S. Couston)

Biologie médicale par internet (MEDICINim@ge) : R. Goursaud, S. Mermond, A.C. Gourinat, S. Tourancheau

Hématologie (Institut BIOFORMATION) : Cytologie sanguine et médullaire : le raisonnement en hématologie., 2,5 jours (S. Mermond, E. Pernot).

FORMATION DISPENSEE PAR L'IPNC

1. FORMATION

1.1. ACCUEIL D'INTERNES EN BIOLOGIE MEDICALE, DE VOLONTAIRES A L'ASSISTANCE TECHNIQUE, DOCTORANT ET POST-DOCTORANT

- Becam Jérôme, VCAT, laboratoire de recherche en bactériologie. 1er avril 2010 au 31 mars 2011.
- Chalkiadakis Eleftérios, doctorant codirigé par l'IFREMER et l'IPNC, laboratoire d'Epidémiologie Moléculaire, depuis 15 septembre 2010 pour 3 ans.
- Chalus Elodie, interne en bactériologie.02 novembre 2010 au 31 octobre 2011.
- Dufourcq Rémi, VCAT, laboratoire d'épidémiologie moléculaire.1er mars 2010 au 30 juin 2011.
- Magnat Elodie, VCAT, laboratoire d'épidémiologie.1er janvier 2010 au 31 octobre 2010.
- Matsui Mariko M, post-doctorante du Gouvernement de Nouvelle-Calédonie, mise à disposition du laboratoire de recherche en bactériologie depuis 1er février 2010.
- Perez Julie, VCAT LRB jusqu'au 31 mars 2010.
- Rivoire Nathalie, interne en bactériologie, 02 novembre 2009 au 31 octobre 2010.
- Vic Marlène, VCAT Ifremer, mis à disposition du laboratoire de recherche en bactériologie jusqu'à fin août 2010.
- Zurawski Virginie, interne au laboratoire d'épidémiologie moléculaire. 2 mai 2010 au 30 avril 2011.

1.2. ACCUEIL DE STAGIAIRES

Dans les différents laboratoires de biologie médicale, LHE et recherches, l'IPNC a accueilli :
- 06 stagiaires du niveau lycée,
- 03 stagiaires de niveau Bac +2.

Le laboratoire d'entomologie médicale a dispensé des formations de sensibilisation et de lutte contre la dengue et ses vecteurs à :
- 08 agents de la Province Sud,
- 85 personnes d'une société privée et ses contractants,
- 23 officiers publics de la Santé et de l'Environnement de Fidji., en collaboration avec le Secrétariat de la Commission du Pacifique Sud.

PUBLICATIONS, DIFFUSION DES CONNAISSANCES, COMMUNICATIONS

1. PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES DANS DES JOURNAUX A COMITE DE LECTURE

1. Vernel-Pauillac, F., Goarant, C. Differential cytokine gene expression according to outcome in a hamster model of leptospirosis. *PLoS neglected tropical diseases*. 2010 Jan 12;4(1):e582.
2. Walling E, Vourey E, Ansquer D, Beliaeff B, Goarant C: *Vibrio nigripulchritudo* monitoring and strain dynamics in shrimp pond sediments. *Journal of Applied Microbiology* 2010, 108: 2003-2011.
3. Perez J, Goarant C Rapid Leptospira identification by direct sequencing of the diagnostic PCR products in New Caledonia. BMC Microbiology 2010, 10:325
4. Tapsall JW, Limnios EA, Abu Bakar HM, Darussalam B, Ping YY, Buadromo EM, Kumar P, Singh S, Lo J, Bala M, Risbud A, Deguchi T, Tanaka M, Watanabe Y, Lee K, Chong Y, Noikaseumsy S, Phouthavane T, Sam IC, Tundev O, Lwin KM, Eh PH, Goarant C, Goursaud R, Bathgate T, Brokenshire M, Latorre L, Velemu E, Carlos C, Leano S, Telan EO, Goh SS, Koh ST, Ngan C, Tan AL, Mananwatte S, Piyanoot N, Lokpichat S, Sirivongranson P, Fakahau M, Sitanilei H, Hung le V. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific and South East Asian regions, 2007-2008. Commun Dis Intell 2010, 34:1-7
5. Berlioz-Arthaud A, Guillard B, Goarant C, Hem S: Surveillance active de la leptospirose humaine en milieu hospitalier au Cambodge. [Hospital based active surveillance of human leptospirosis in Cambodia.]. Bull Soc Pathol Exot. 2010, 103: 111-118
6. Vernel-Pauillac, F., Ratsima, E.H., Guillard, B., Goursaud, R., Lethezer, C., Hem, S., Merien, F., Goarant, C., 2010. Correlation between antibiotic susceptibilities and genotypes in *Neisseria gonorrhoeae* from different geographical origins: determinants monitoring by real-time PCR as a complementary tool for surveillance. *Sexually transmitted infections.* 86:106-111.
7. Li D, Liu W, Guigon A, Aaskov J. Rapid Displacement of Dengue Virus Type 1 in the Pacific by Dengue Virus Type 4. *Emerg Infect Dis*. 2010 Jan;16(1):123-5
8. Gourinat A.C., D'Ortenzio E. Le diagnostic biologique de la dengue à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie. *Bulletin Médical Calédonien et Polynésien*, décembre 2010.
9. Mermond S, Berlioz-Arthaud A, Estivals M, Levenes H, Baumann F, Martin P. Aetiology of community-acquired pneumonia in hospitalized adult patients in New Caledonia. *Trop Med Int Health.* 2010 Dec;15(12):1517-24.
10. Le Hello S, Doloy A, Baumann F, Roques N, Coudene P, Rouchon B, Lacassin F, Bouvet A. Clinical and microbial characteristics of invasive *Streptococcus pyogenes* disease in New Caledonia, a region in Oceania with a high incidence of acute rheumatic fever. *J Clin Microbiol.* 2010 Feb;48(2):526-30.
11. Le Hello S., Watson, M., Levy M., Marcon S., Brown, M., Yvon JF., Missotte I., Garin B. Invasive serotype 1 *Streptococcus pneumoniae* outbreaks in the South Pacific (2000-2007). *J Clin Microbiol.* 2010 Aug;48(8):2968-71.
12. Le Hello S., Falcot V., Lacassin F., Mikulski M., Baumann F. Risk factors for carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii infections in a tertiary care hospital of New Caledonia, South Pacific. *Scand J Infect Dis.* 2010 Dec;42(11-12):821-6.
13. M. Matsui, S. Kumar-Roiné, M. Chinain, D. Laurent, S. Pauillac. Pacific ciguatoxin 1B induced modulation of inflammatory mediators in a murine macrophage cell line, *Toxicon* 2010 Oct;56(5):776-84
14. S. Kumar-Roiné, M. Matsui, S. Pauillac, D. Laurent, Etudes phytochimiques et pharmacologiques de plantes du Pacifique traditionnellement utilisées pour le traitement de la ciguatera, *Ethnopharmacologia*, n°45, juillet **2010**
15. S. Kumar-Roiné, M. Matsui, S. Pauillac, D. Laurent, Ciguatera fish poisoning and other seafood intoxication syndromes: A revisit and a review of the existing treatments employed in ciguatera fish poisoning, *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, **2010**, 28: 1-26
16. Méjean A, Peyraud-Thomas C, Kerbrat AS, Golubic S, Pauillac S, Chinain M, Laurent D. First identification of the neurotoxin homoanatoxin-a from mats of *Hydrocoleum lyngbyaceum* (marine cyanobacterium) possibly linked to giant clam poisoning in New Caledonia. *Toxicon* 2010 Oct;56(5):829-35.
17. Baumann F, Bourrat MB, Pauillac S. Prevalence, symptoms and chronicity of ciguatera in New Caledonia: Results from an adult population survey conducted in Noumea during 2005. *Toxicon* 2010 Oct;56(5):662-7.

18. Golubic S, Abed RM, Palińska K, Pauillac S, Chinain M, Laurent D. Marine toxic cyanobacteria: diversity, environmental responses and hazards. *Toxicon*. 2010 Oct;56(5):836-41.

19. Chinain M, Darius HT, Ung A, Cruchet P, Wang Z, Ponton D, Laurent D, Pauillac S. Growth and toxin production in the ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus polynesiensis* (Dinophyceae) in culture. *Toxicon*. 2010 Oct;56(5):739-50.

20. Chinain M, Darius HT, Ung A, Fouc MT, Revel T, Cruchet P, Pauillac S, Laurent D. Ciguatera risk management in French Polynesia: The case study of Raivavae Island (Australes Archipelago). *Toxicon*. 2010 Oct;56(5):674-90.

21. Le Roux F, Labreuche Y, Davis BM, Iqbal N, Mangenot S, Goarant C, Mazel D, Waldor MK. Virulence of an emerging pathogenic lineage of Vibrio nigripulchritudo is dependant on two plasmids. Environmental Microbiology (sous presse).

2. COMMUNICATIONS ORALES OU AFFICHEES A DES CONGRES, COLLOQUES OU ATELIERS

2.1. COMMUNICATIONS ORALES

- Gourinat A.C. La surveillance de la Dengue en Nouvelle-Calédonie. Atelier des territoires Français du Pacifique, 22-25 février 2010, Nouméa.
- Gourinat A.C. 4e réunion des centres nationaux Grippe dans les régions du Pacifique occidental et de l'Asie du sud-est. 3-7 mai 10, Manille (Philippines).
- Gourinat A.C. 16e réunion du groupe de coordination ROSSP (Réseau Océanien de la Surveillance de la Santé Publique) et la réunion OMS/CPS sur la surveillance syndromique pour le Pacifique. 20-25 mars 10, Auckland (Nlle-Zélande).
- Chanteau S. Réunion des membres du Comité de Conseil Scientifique de l'OMS concernant l'assurance qualité des diagnostics. 14-16 avril 10, Genève (Suisse).
- Guillaumot L. Surveillance entomologique de la dengue en Nouvelle-Calédonie. Atelier des Territoires Français du Pacifique 22-25 février 2010 Nouméa.
- Goarant C et S Chanteau. Séminaire sur la leptospirose du Réseau International des Instituts Pasteur. 07-09 juin10, IP Paris.
- Guillaumot L., Lucien K., Grangeon JP. Used tyres as lethal ovitraps against dengue vectors : what works and what does not. 9ème Conférence de la Mosquito Control Association of Australia (MCAA) Caloundra, Australie, 12-15 septembre 2010.
- Mermond S. Pneumonia etiology research in child health (PERCH). Site investigator meeting. 22-24 April 2010, Kilifi, Kenya.
- Chanteau S. 17e réunion du groupe de coordination du ROSSP (Réseau Océanien de Surveillance de la Santé Publique et réunion régionale LabNet. 01 - 04 novembre 10, Suva (Fidji).
- Goarant C, Dupont M, D'Ortenzio E, Guillaumot L, Mermond S, Gourinat AC, Goursaud R, Urbes F, Matsui M, Becam J, Chanteau S. Présentation des projets devant le Conseil scientifique IPNC. 9-10 décembre 2010.

2.2. COMMUNICATIONS AFFICHÉES

- Gourinat A.C. et coll. : Surveillance of the Pandemic influenza in New Caledonia. The 4th meeting of national influenza centers in the Western Pacific and South East Asia regions. Atelier OMS. 03-06 May 2010. Manila, Philippines
- Perez J., Brescia F., Becam. J, Goarant C. : Deciphering leptospirosis eco-epidemiology in New Caledonia. Réunion scientifique du RIIP. 22-23 novembre 10 à Hong-Kong.
- Boisier P., Berger F., Bourhy P., Guillard B., Guyomard-Rabenirina S., Kouadio K., Picardeau M., Goarant C. : Networking to implement diagnostic capacity and (re-) evaluate the public health importance of leptospirosis in the Institut Pasteur International Network. 22-23 novembre 10 à Hong-Kong.
- Scotet J., Baumann F., Dupont M., Grangeon C., Oftadeh S., Garin G., Chanteau S., Le Hello S. : Impact of Prevnar vaccination on nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children in New Caledonia. 22-23 novembre 10 à Hong-Kong.
- Mermond S, Blair DH, Magnat E, Tourancheau S, Lartigue M, Garvez AM, Duffy GM, Chanteau S. Evaluation of a simple, low throughput and low cost CD4 T-cell enumeration platform. 22nd Annual Conference of the Australasian Society for HIV Medicine. 20-22 Oct 2010, Sydney, Australia.
- Aubry M, Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, Roche C, Laster S, Chanteau S, Aaskov J, Cao-Lormeau M. Epidemiology and genetic evolution of dengue viruses in the French Pacific Territories. 59th ASTMH meeting. 3-7 November 2010. Atlanta.

- Zurawski V, Driscoll A, Deluca A, Knoll M, Murdoch D, O'Connor O, Dupont-Rouzeyrol M, D'Ortenzio Eric, Missotte I, Besson-Leaud L, Moïsi J, Chevalier C, Debarnot V, Levine O, Mermond S. Aetiologies of lower respiratory infections in hospitalized children in New Caledonia: a PERCH pilot study. Institut Pasteur International Network meeting. 22-25 November 2010. Hong-Kong.
- Scotet J, Baumann F, Dupont-Rouzeyrol M, Grangeon C, Oftadeh S, Garin B, Chanteau S, Le Hello S. Impact of Prevenar vaccination on nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children in New Caledonia. Institut Pasteur International Network meeting. 22-25 November 2010. Hong-Kong.
- Dupont-Rouzeyrol M, Aubry M, O'Connor O, Roche C, Laster S, Chanteau S, Aaskov J, Cao-Lormeau M. Epidemiology and genetic evolution of dengue viruses in the French Pacific Territories. Institut Pasteur International Network meeting. 22-25 November 2010. Hong-Kong.

3. MEMOIRES DE THESES ET DOCUMENTS DIVERS

- Goarant C. Mémoire « Bactéries pathogènes, hôtes, et environnement : une approche multifactorielle pour l'étude de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie » pour l'obtention du diplôme Habilitation à Diriger des Recherches (HDR), Université Montpellier 2, 15 juin 2010.
- Perez J. Rapport de VCAT IPNC : « densités des rongeurs et portage *de Leptospira spp.* pathogènes : résultats des campagnes d'étude 2009 au sein des tribus de Pöté et Buiru, commune de Bourail ». Mars 2010
- Vic M. Rapport de VCAT Ifremer / IPNC : Etude de la virulence de *Vibrio penaeicida AM101*, pathogène de crevette d'élevage en Nouvelle-Calédonie. Août 2010.

4. GRAND PUBLIC

FETE DE LA SCIENCE

Dans le cadre de la Fête de la Science, comme chaque année, l'IPNC propose des matinées portes ouvertes aux collégiens et lycéens, et participe à la journée de la science pour le grand public. En 2010, cette manifestation s'est également déplacée en province Nord et dans les îles Loyauté (Koumac et Lifou).

Institut Pasteur
de Nouvelle-Calédonie
Réseau International des Instituts Pasteur

Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie
9,11, avenue Paul Doumer | B.P. 61 - 98845 Nouméa Cedex | Tél. : + 687 27 26 66 - Fax : + 687 27 33 90 | www.institutpasteur.nc