2009

Rapport technique 2009

Institut Pasteur
de Nouvelle-Calédonie
Réseau International des Instituts Pasteur

SOMMAIRE GENERAL

SOMMAIRE GENERAL 1

INTRODUCTION 3
EDITORIAL 4
L'ANNEE 2009 EN QUELQUES CHIFFRES 5
ORGANIGRAMME FONCTIONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR DE NOUVELLE-CALEDONIE - 2009 6
LISTE ALPHABETIQUE DU PERSONNEL AU 31/12/2009 7
LES INVESTISSEMENTS EN 2009 9
LES FINANCEMENTS EN 2009 10

ACTIVITES DE DIAGNOSTIC 11
GENERALITES 12
ACTIVITES DU CENTRE DE BIOLOGIE MEDICALE 13
HEMATOLOGIE 14
LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE 15
LABORATOIRE DE PARASITO-MYCOLOGIE 19
HYGIENE HOSPITALIERE 20
LABORATOIRES SERO-IMMUNOLOGIE ET DIAGNOSTIC SPECIALISE 22
LABORATOIRE D'HYGIENE DES ALIMENTS ET DE L'ENVIRONNEMENT 23

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE 25
DONNEES SUR 5 ANS DES BACTERIES MULTIRESISTANTES EN NOUVELLE-CALEDONIE 26
SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES GONOCOQUES EN NOUVELLE-CALEDONIE 31
SURVEILLANCE DU PNEUMOCOQUE EN NOUVELLE- CALEDONIE 34
SURVEILLANCE DES MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 37
SURVEILLANCE EN NOUVELLE-CALEDONIE 37
ACTIVITES REGIONALES : ETUDE DES SOUCHES DE M. TUBERCULOSIS ISOLEES A KIRIBATI 39
SURVEILLANCE DE LA LEPTOSPIROSE EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 40
SURVEILLANCE DE LA GRIPPE ET AUTRES VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE EN NOUVELLE-CALEDONIE 48
SURVEILLANCE DU VIH EN NOUVELLE-CALEDONIE 55
SURVEILLANCE DE LA DENGUE EN NOUVELLE-CALEDONIE 57
SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE 62
REGISTRE DU CANCER DE NOUVELLE-CALEDONIE 74

ACTIVITES DE RECHERCHE 77
LABORATOIRE DE RECHERCHE EN BACTERIOLOGIE 78
LEPTOSPIRES ET LEPTOSPIROSES 78
ETUDES SUR LES VIBRIO PATHOGENES DES CREVETTES D'ELEVAGE COLLABORATION AVEC L'IFREMER .. 82
LABORATOIRE DES BIOTOXINES 84
LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE 87
LA DENGUE 87
EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES DE L'ENFANT EN NOUVELLE-CALEDONIE (PERCH-NC) 91
BIO-PROSPECTION ET BIODIVERSITE DE MICRO-ORGANISMES DES MILIEUX EXTREMES DES LAGONS DE LA NOUVELLE-CALEDONIE 92
LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE 93
FACTEURS DE RISQUE DU MESOTHELIOME EN NOUVELLE-CALEDONIE, DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES ET GEOLOGIQUES 93

AUTRES ACTIVITES 95
FORMATION DU PERSONNEL IPNC 96
FORMATION ET ENSEIGNEMENT DISPENSES PAR L'IPNC 97
DIFFUSION DES CONNAISSANCES 98
COLLOQUES, CONGRES, ATELIERS SCIENTIFIQUES 102

INTRODUCTION

EDITORIAL 4

L'ANNEE 2009 EN QUELQUES CHIFFRES 5

ORGANIGRAMME FONCTIONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR DE NOUVELLE-CALEDONIE - 2009 6

LISTE ALPHABETIQUE DU PERSONNEL AU 31/12/2009 7

LES INVESTISSEMENTS EN 2009 9

LES FINANCEMENTS EN 2009 10

EDITORIAL

Dans l'éditorial de l'année 2008, nous annoncions que l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, 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 longues et délicates, car elles 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 les missions de base de l'IPNC, 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 faire de l'IPNC l'observatoire microbiologique de la santé humaine 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 devrait voir le jour au cours de l'année 2010.

L'équilibre budgétaire d'exploitation retrouvé en 2008, s'est confirmé cette année par des résultats positifs qui seront réinvestis dans l'amélioration des plateaux techniques, la qualité, l'hygiène et la sécurité. Certes, il y eut une augmentation notable des activités d'analyses assurément en lien avec plusieurs épidémies de grande ampleur, mais y ont contribué également une meilleure gestion des ressources et les restructurations entreprises ces dernières années.

En 2009, ce sont les activités de santé publique qui sont apparues au premier plan. L'année a été exceptionnelle puisque la Nouvelle-Calédonie a été touchée par trois épidémies d'importance : leptospirose, dengue et grippe A.

En raison d'une pluviométrie anormalement élevée, pour une deuxième année consécutive la leptospirose a été à l'origine de nombreux cas graves hospitalisés.

Pour la même raison, l'épidémie de dengue de type 1 de 2008 s'est poursuivie, amplifiée par l'introduction d'un nouveau virus de type 4, absent du territoire depuis près de 30 ans. Nos laboratoires comme le service d'entomologie médicale ont été fortement mobilisés.

Enfin, dès le mois de juin, la Nouvelle-Calédonie a été parmi les tout premiers pays touchés par la pandémie de grippe A/H1N1 d'origine porcine. Bien préparées à la survenue éventuelle d'une grippe aviaire, les institutions sanitaires concernées, sous la coordination du Gouvernement, ont su y faire face avec discernement et efficacité. Le pays a été observé et son expérience partagée avec la métropole. L'IPNC, membre du réseau mondial des centres nationaux sur la grippe, a été en première ligne pour la confirmation biologique.

En matière de recherche, notre volonté de recentrage sur deux grandes thématiques, la leptospirose et la dengue, nous a conduits en conséquence à redistribuer et renforcer les moyens qui leur sont consacrés. Toutefois, ont été également soutenues des recherches plus ponctuelles en santé publique. Dans ce contexte, le programme sur les biotoxines marines a été clôturé après le point d'orgue du colloque international de 2008.

On ne peut que se féliciter de constater le nombre et la qualité de la production scientifique des équipes en 2009. L'IPNC participe bien au monde scientifique international.

Nous avons eu plusieurs fois l'occasion de regretter le déficit de perception du rôle de notre institut au sein même de la population locale. C'est pourquoi nous avons entrepris une politique de communication. En avril 2009 fut organisée une grande exposition itinérante intitulée « Histoire d'une épopée au service des hommes » co-organisée avec le musée de la ville de Nouméa et le musée L. Pasteur à Paris. D'une part, elle retraçait les grandes découvertes pasteuriennes, d'autre part l'histoire particulière de notre institut en Nouvelle-Calédonie. Dans le même esprit, l'IPNC a conçu et édité une brochure de présentation actualisée.

Je remercie l'ensemble du personnel de l'IPNC pour leur sens des responsabilités et leur très haut niveau de mobilisation pendant cette année chargée en épidémies.

Ainsi, 2009 se situe bien dans la continuité progressive de nos réflexions stratégiques pour un changement de l'IPNC au service de la Nouvelle-Calédonie.

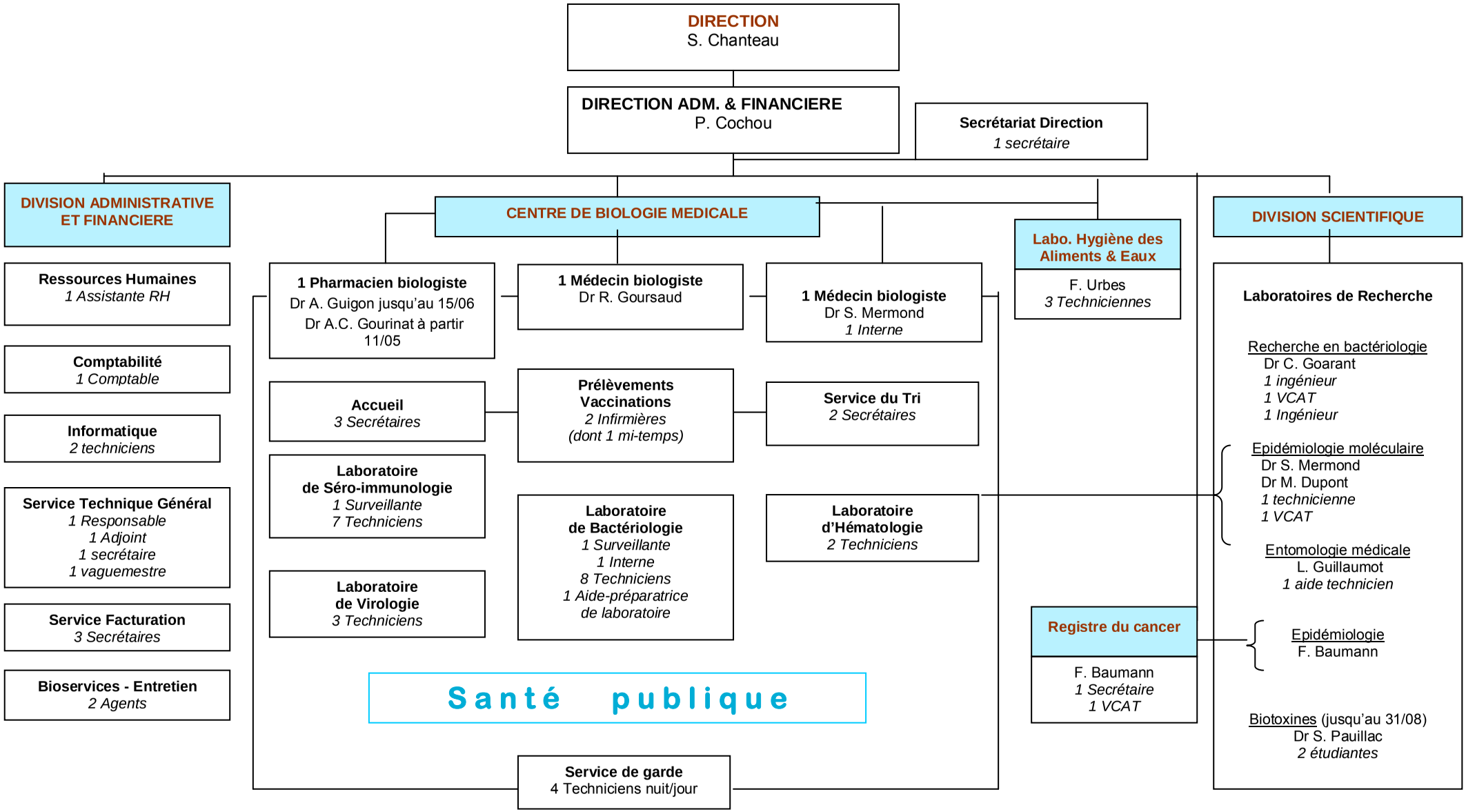
Suzanne CHANTEAU
Directrice
Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

L'ANNEE 2009 EN QUELQUES CHIFFRES

	2009	2008	2007	2006
Personnel				
Effectif total	**71 + 6 ***	**68 + 7***	**73 + 5***	**76 + 5***
Scientifiques, biologistes/chercheurs temps partiel	6 + 6 *	8+ 7*	8 + 5*	8 + 5*
Techniciens labo + cadres de santé	43	38	41	44
Administratifs	19	19	21	21
Service général	3	3	3	3
Budget d'exploitation en M. FCFP				
Personnel (IPP + IPNC + Assistance technique + fonctionnaires)	542	537	586	593
Fonctionnement	431	409	360	327
Investissement	12	32	50	34
Total	**985**	**978**	**996**	**954**
Activités de Diagnostic				
Nombre d'actes (x1000)	188	169	136	174
Nombre de B/BP (x1000)	11 873	10 512	11 608	10 788
Valeur moyenne des actes (en B)	63	62	85	62

***** : VCAT, internes, étudiants.

ORGANIGRAMME FONCTIONNEL DE L'INSTITUT PASTEUR DE NOUVELLE-CALEDONIE - 2009



LISTE ALPHABETIQUE DU PERSONNEL AU 31/12/2009

1. PERSONNEL EN CDI AU 31/12/2009

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
BAUMANN Francine (Responsable du service Statistiques et Epidémiologie)	1
BROSSE Patricia (Technicienne de laboratoire)	1
BRUYERE-OSTELLS Lilian (Technicien de laboratoire) – CDI 07/05/09	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
DUMAS Nathalie (Infirmière Diplômée d'Etat à mi-temps)	1
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 recher. en bactériologie)	IP Paris
GOPOEA Pétronille (Femme de service M.A.S.)	2
GOURINAT Ann-Claire (Biologiste adjointe) – CDI 11/05/09	1
GOURSAUD Régis (Responsable du laboratoire de bactériologie)	IP Paris
GUILLAUMOT Laurent (Technicien en entomologie)	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
LARTIGUE Maximilien (Technicien de laboratoire)	1
LAZZAROTTO Lionel (Technicien de laboratoire)	1
LEAO KITU Jean (Agent de service)	1
LE BIHAN (Technicienne de laboratoire) – CDI 17/08/09	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
MANAUTE Carole (Technicienne de laboratoire)	2
MASSENET Louise (Technicienne de laboratoire)	1
MAURON Carine (Technicienne de laboratoire)	1
MERMOND Sylvain (Biologiste adjoint)	IP Paris
MOKHTARI Sonia (Technicienne de laboratoire) – CDI 01/09/09	1
MOLEANA Denise (Technicienne de laboratoire)	2
MOUX Claudina (Technicienne de laboratoire)	1
MROZ Sylvie (Technicienne de laboratoire)	2
O'CONNOR Olivia (Technicienne de recherche diagnostic spéc.) – CDI 01/12/09	1
PAPROCKI Nathalie (Secrétaire médicale)	1
POITHILY Chantal (Technicienne de laboratoire) – CDI 26/01/09	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
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 (Secrétaire médicale)	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 - CDI 11/02/09	1

2. PERSONNEL EN CONTRAT TEMPORAIRE OU EN SUSPENSION DE CONTRAT

Nom et Fonction	Budget
BOURGUET Edouard (techn. ingénieur entomol.) – CDD 01/01 au 06/02/09	1
KUMAR-ROINÉ Shilpa (Doctorante) – jusqu'à nov. 2009	1
LAMY Corinne (Technicienne de laboratoire) – CDD 01/12/09 au31/01/10	1
MAGNAT Elodie (VCAT Epidémio.) – jusqu'au 31/10/2010	1
MATSUI Mariko (Doctorante) – Jusqu' à nov. 2009	1
MOUGATOGA Rowena (Secrétaire médicale) – CDD jusqu'à sept. 09 puis CDI	1
PEREZ Julie (VCAT au LRB) – jusqu'au 31/03/10	1
PERNOT Elise (Technicienne de laboratoire) – CDD 02/06/09 au 31/05/10	1
RIVOIRE Nathalie (Interne bactério) – du 01/11/09 au 31/10/10	1
ROQUIGNY Nicolas (Interne bactério) – jusqu'à fin octobre 09	1
VIC Marlène (VCAT IFREMER, détachée au LRB) – jusqu'au 31/08/10	1
ZURAWSKI Virginie (Biologiste assistante) 04/05/9 au 31/10/09 - puis interne jusqu'à mai 2010	1

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

Nom et Fonction	Budget
FAVRELIERE Gaëlle (Technicienne de laboratoire) – Démission 29/05/09	2
GUIGON Aurélie (Biologiste adjointe) – Démission 15/06/09	1
LEMOUTON Sêhomi ((IDE à mi-temps) – démission 17/09/09	2
MOEALI Carinne (Comptable) – Licenciée 30/11/09	1
PAUILLAC Frédérique – Fin de séjour 31/08/09	IP Paris
PAUILLAC Serge – Fin de séjour 31/08/09	IP Paris
RONCIER Leslie (Technicienne de laboratoire) – Fin contrat 23/09/09	1
ROUSSELOT Martine (Aide de laboratoire) – Retraite 31/01/09	1
TOUZE Franck - (Technicien de laboratoire) – Fin contrat 11/02/09	1

LES INVESTISSEMENTS EN 2009

1. EQUIPEMENT SCIENTIFIQUE

1 Agitateur à rouleau
1 PC pour VITEK
1 Microscope DMX 750 LEICA
1 Générateur d'aérosol
2 Pipettes électroniques
1 Densimat avec pile lithium

2. MATERIEL DE BUREAU & INFORMATIQUE

3 Destructeurs de papier
1 Onduleur
6 Imprimantes/scanner
2 Imprimantes Laser couleur KYOCERA
2 Imprimantes SATO pour étiquettes
1 Imprimante jet d'encre
1 Stockage réseau NAS THECUS
12 Ordinateurs

3. MATERIEL NON SCIENTIFIQUE

2 Couvercles bain-marie
1 Congélateur armoire
1 Armoire réfrigérée
1 Micro-onde 42 L
1 Véhicule Renault Scénic

4. AMENAGEMENT DES LOCAUX

1 Installation électrique
5 Climatiseurs SPLIT système
1 Système gestion file d'attente
2 Panneaux d'affichage
1 Ensemble bureau & caisson
1 Table de rallonge
1 Ensemble étagères

LES FINANCEMENTS EN 2009

1. SUBVENTIONS INSTITUTIONNELLES

1.1 GOUVERNEMENT DE NOUVELLE-CALEDONIE

- Subvention pour la surveillance des maladies infectieuses et le registre du cancer (DASS NC)
- 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

2.1 INSTITUT PASTEUR PARIS

- ACIP «Mise au point et validation d'un test de diagnostic rapide de la leptospirose » - C. Goarant.
- Equipements en matériel de visioconférence.
- Prise en charge de frais de participation à des réunions scientifiques et frais d'inscription aux cours spécialisés
- Mission d'expertise et accompagnement du projet IPNC dans le Médipôle

2.2 MINISTERE D'OUTRE-MER, FONDS DU PACIFIQUE

- « Amiante environnemental : comparaison de données épidémiologiques, géologiques et minéralogiques – F. Baumann
- « 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
- « Création d'un réseau de recherche sur la leptospirose dans le Réseau International des Instituts Pasteur ». C Goarant.
- « Prévention et prévisions des épidémies de dengue ». L Guillaumot, AC Gourinat. Coordinateur Morgan Mangeas (IRD Nouméa)

2.3 AGENCE NATIONALE DE 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 ». 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

2.6 INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE

- Registre du cancer

ACTIVITES DE DIAGNOSTIC

GENERALITES 12

ACTIVITES DU CENTRE DE BIOLOGIE MEDICALE 13

HEMATOLOGIE 14

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE 15

LABORATOIRE DE PARASITO-MYCOLOGIE 19

HYGIENE HOSPITALIERE 20

LABORATOIRES SERO-IMMUNOLOGIE ET DIAGNOSTIC SPECIALISE 22

LABORATOIRE D'HYGIENE DES ALIMENTS ET DE L'ENVIRONNEMENT 23

GENERALITES

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

	Nombre de B en 2008			Nombre de B en 2009		
	C.H.P.* (%)	**Externes (%)**	**Total (%)**	**C.H.P. *(%).**	**Externes(%)**	**Total (%)**
Bactério./Parasito.	4 059 858 (86,38)	640 400 (13,62)	4 700 258 (100)	4 468 654 (87.02)	666 460 (12,98)	5 135 114 (100)
Hématologie	1 856 860 (82,75)	387 295 (17,25)	2 244 155 (100)	2 010235 (83.23)	405 175 (16.77)	2 415 410 (100)
Séro-immuno, diagn. spécialisé	1 245 545 (34,92)	2 321 690 (65,08)	3 567 235 (100)	1 435 395 (33.20)	2 887 510 (66.80)	4 322 905 (100)
Total	**7 162 263 (68,14)**	**3 349 385 (31,86)**	**10 511 648 (100)**	**7 914 284 (66.66)**	**3 959 145 (33.34)**	**11 873 429 (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 2009, un total de **7723** échantillons ont été analysés, soit un nombre d'échantillons stable par rapport à 2008 (7673 échantillons). Ils se répartissent en échantillons alimentaires (40%), d'eaux (46%) et de produits industriels (14%).

L'augmentation sensible des tarifs ont permis à ce service de réduire notablement son déficit. Les tarifs 2009 sont plus proches des coûts réels d'exploitation.

ACTIVITES DU CENTRE DE BIOLOGIE MEDICALE

1. PRESENTATION GENERALE

L'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) a un rôle d'observatoire des maladies infectieuses humaines en Nouvelle-Calédonie.
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 certains laboratoires privés. Ces activités font l'objet de rapports séparés (pages 26 à 61) :

- Données sur 5 ans des 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 2009, l'activité totale du centre de biologie médicale s'élève à près de 12 millions de B, en augmentation de 13% par rapport à 2008, en raison des épidémies exceptionnelles de dengue, de grippe et de leptospirose.

Laboratoires	**Nombre B 2006 (%)**	**Nombre B 2007 (%)**	**Nombre B 2008 (%)**	**Nombre B 2009 (%)**
Bactériologie & Parasitologie	4 646 986 (48,3)	5 089 426 (48,9)	4 700 258 (44,72)	5 135 114 (43.25)
Hématologie	2 375 615 (24,7)	2 391 475 (22,9)	2 244 155 (21,35)	2 415 410 (20.34)
Sérologie, virologie, diagnostic spécialisé	2 589 995 (27)	2 923 834 (28,1)	3 567 235 (33,93)	4 322 905 (36.41)
Total	**9 612 596 (100)**	**10 404 735 (100)**	**10 511 648 (100)**	**11 873 429 (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 ;
- NRLet RCPA (contrôles australiens).

HEMATOLOGIE

S. Mermond, V. Zurawski

L'activité du laboratoire d'hématologie en 2009 a augmenté de 7% par rapport à 2008 et représente 20% de l'activité du LABM.
Le plateau technique est composé de 2 automates d'hématologie Cell-Dyn 3700® (Abbott™), 1 cytométre de flux CD3-CD4-CD8 Facscount® (Beckton-Dickinson™) et 2 microscopes.

1. CYTOLOGIE HEMATOLOGIQUE

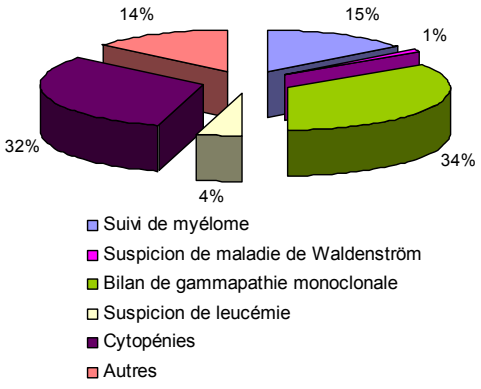
1.1 HEMOGRAMMES

Un contrôle sur frottis a été réalisé pour 10,5% des hémogrammes (n= 6 902), soit une augmentation de 2,5% par rapport à l'année précédente. L'épidémie de dengue peut expliquer en partie cette augmentation puisque les thrombopénies doivent être systématiquement contrôlées sur frottis afin d'éliminer une pseudo-thrombopénie liée à l'EDTA.

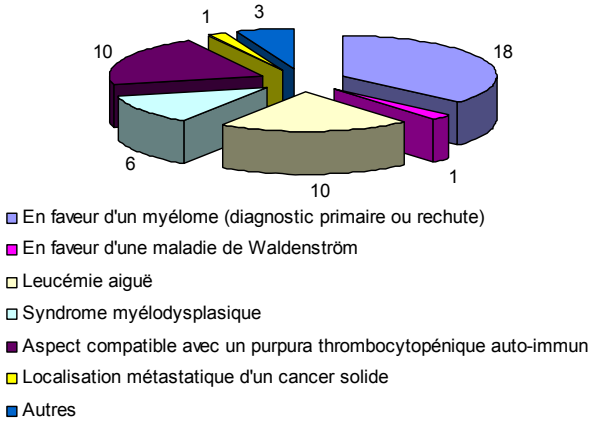
1.2 MYELOGRAMMES ET HEMOPATHIES

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

Indications des myélogrammes



Contributions au diagnostic étiologique



2. PARASITOLOGIE SANGUINE

La demande de recherche de *Plasmodium* est très faible (97 examens dont 7 sont positifs). Il s'agit d'un paludisme d'importation en provenance du Vanuatu. Les espèces identifiées sont *P. falciparum* (n = 5) et *P. vivax* (n=3) dont un cas de co-infection.

3. CONTROLE QUALITE EXTERNE (CQE)

Le laboratoire d'hématologie a participé au CQE organisé pour l'hémogramme par PRO.BIO.QUAL à partir du second semestre 2009, sur un seul des deux automates (CD 3700 de jour).
A l'exception de la mesure du Volume Plaquettaire Moyen, les résultats obtenus avec ces 4 contrôles pour les 9 autres paramètres testés sont tous dans l'intervalle calculés à partir des valeurs cibles et des coefficients de variation selon les exigences du GBEA.
Il est prévu de poursuivre ce CQE sur l'ensemble de l'année 2010 et de l'étendre aux 2 automates.

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

R. Goursaud, N. Rivoire, C. Lethezer

1. INTRODUCTION

L'année 2009 a été dominée par la conjonction de la pandémie grippale à laquelle nous avons dû faire face en précurseurs pendant l'hiver austral (augmentation de 9% des activités). Elle a mobilisé toutes les énergies disponibles du laboratoire. L'accent a pu toutefois être mis sur la révision des procédures à partir du 4ième trimestre et se poursuivra l'an prochain.

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 5,14 M de B (43% de l'activité du LABM), soit 11,5% de plus qu'en 2008.

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 37 à 39).

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 2008.

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 8 303 hémocultures, 1203 germes ont été isolés chez 603 patients (21 %).

			Patients	Germes	
Entérobactéries			**196**	**332**	*28%*
	Dont :	*Escherichia coli*	89	128	*11%*
		Klebsiella pneumoniae	38	73	
		Enterobacter cloacae	20	36	
		Proteus mirabilis	10	13	
		Serratia marcescens	11	26	
Streptocoques			**92**	**146**	*12%*
	Dont :	*Streptococcus pneumoniae*	61	101	*8%*
		Streptocoque pyogenes Groupe A	31	49	
Bacteries anaerobies strictes			**23**	**37**	
Levures			**14**	**31**	
	Dont :	*Candida albicans*	8	19	
Entérocoques			**29**	**49**	*4%*
	Dont :	*Enterococcus faecalis (gpe D)*	22	36	
Staphylococcus aureus			89	190	*16%*
Pseudomonas aeruginosa			31	51	
Acinetobacter baumannii			9	12	
Germes 'peu pathogènes'			**275**	**348**	*29%*
	Dont :	*Staphylocoques coag. negative*	242	314	*26%*
		Autres	33	34	

2.2 HEMOCULTURES PEDIATRIQUES

Pour 2 478 hémocultures, 278 germes ont été identifiés chez 280 patients (9%).

		Patients	Germes	
Streptocoques		**42**	**48**	*17,3%*
dont :	*Streptococcus pneumoniae*	*20*	*24*	*8,6%*
	Streptocoque pyogenes Groupe A	*6*	*6*	
Staphylococcus aureus		21	29	*10,4%*
Entérobactéries		**11**	**13**	*4,7%*
Germes 'peu pathogènes'		**167**	**179**	*64,4%*
dont :	*Staphylococcus epidermidis*	*54*	*64*	*23,0%*
	Micrococcus sp	*18*	*18*	*6,5%*
	Staphylococcus hominis	*31*	*31*	*11,2%*
	Staphylococcus warneri	*24*	*25*	*9,0%*

3. COPROCULTURES

En 2009, **1337 coprocultures** ont été effectuées pour 1052 patients. A signaler :

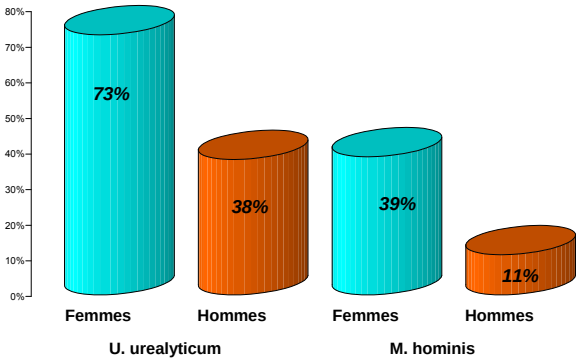
- 21 salmonelles : *S. ser. weltevreden (13), S. ser. typhimurium (7)) S. ser.enteritidis (1), et S enterica (2).*
- 19 Shigelles : *flexneri (9) et sonnei (10)*
- 13 Campylobacter : *C. jejuni (12)*
- 22 E. coli « entéro-pathogènes »*) O119:B14 (4); O128:B12 (4); O127:B8 (3); O86:B7 (2) ; O125:B15 (2); O126:B16 (2) ; O114:K90 (2); O142:K86 (2) ; O111:B4 (1).*
- 60 Rotavirus : année épidémique dont l'acmé se situe à la saison froide.

4. TRACTUS UROGENITAL

- **8681 ECBU,** 210 germes isolés: 75% sont des Entérobactéries (49% *E coli*)
- **3304 prélèvements vaginaux**, 1824 germes isolés : 58% levures, 26% streptocoques, 28% Entérobactéries
- **167 prélèvements urétraux**, 99 germes isolés dont 53 gonocoques
- **9 recherches de tréponèmes** , un seul positif sur microscopie à fonds noir. Il persiste en Nouvelle-Calédonie des sérologies syphilitiques positives, cet examen mériterait sans doute d'être plus fréquemment prescrit.

- **716 recherches de mycoplasmes uro-génitaux**. 77% *Ureaplasma urealyticum* 41% *Mycoplasma hominis*. La population féminine représente un réservoir important de contamination par *U. urealyticum*

Pourcentage de positivité des MUG selon le sexe



5. SECRETIONS RESPIRATOIRES

- **309 prélèvements profonds respiratoires**, 104 germes isolés dont 15% d' *Haemophilus,* 31% d'*Entérobactéries*, 19% de *Pseudomonas aeroginosa*.
- **4098 prélèvements superficiels respiratoires** (2700 expectorations et 1398 aspirations bronchiques) en quasi-totalité d'origine hospitalière, dont 21% au titre de la détection des infections nosocomiales : 1362 germes isolés dont 37% de *H. influenzae*, 25% d'Entérobactéries, 14% de Pseudomonas et 13% de pneumocoques.
- 71 recherches d'Actinomycètes et 18 recherches d'histoplasmes, aucun positif.

6. LIQUIDES BIOLOGIQUES

Au total **1 295 liquides biologiques** ont été analysés et proviennent en quasi-totalité d'explorations hospitalières. Sur les **513 LCR examinés**, 25 germes ont été isolés dont seulement 5 méningocoques (*4 groupe B et 1 Y/W135*), mais une augmentation du nombre de pneumocoques.

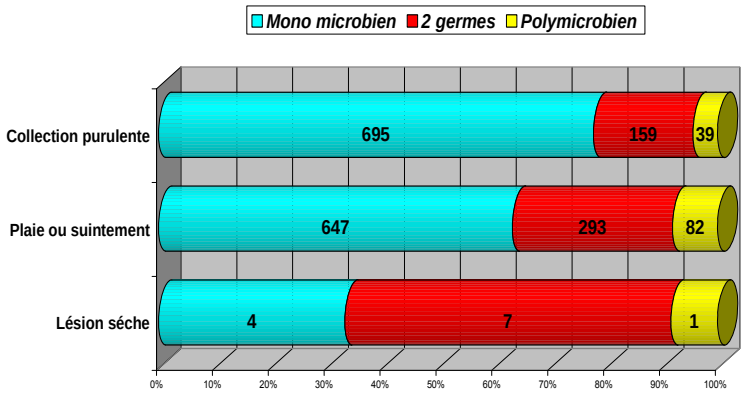
7. DISPOSITIFS DIVERS

Ils sont représentés par **347 dispositifs intra-tissulaires** (stérilets, prothèses, drains), **722 cathéters** (augmentation liée à une étude du CHT), **174 dispositifs intra-cavitaires** (sondes d'intubation, sondes urinaires).

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



- 1 222 suppurations profondes
- 1410 suintements superficiels
- 14 lésions cutanées sèches

9. PRELEVEMENTS OCCULAIRES

Au total 241 prélèvements analysés (**221 conjonctivites, 25 lésions cornéennes)**. Une thèse d'exercice est en cours sur les prélèvements cornéens de ces 5 dernières années

Les germes les plus fréquemment retrouvés dans les conjonctivites sont dans le tableau ci-après.

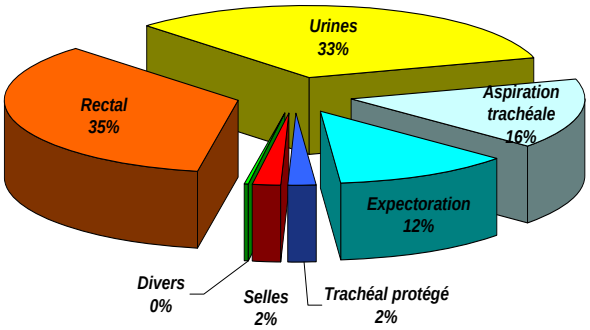
Staphylococcus aureus	36	*Haemophilus influenzae*	18
Entérobactéries	17	*Branhamella catarrhalis*	10
Streptococcus pneumoniae	9	*Pseudomonas aeruginosa*	3

10. PRELEVEMENTS PROSPECTIFS DANS LE CADRE DU CLIN

Théoriquement répartis en deux catégories, ces échantillons concernent soit un individu dont on explore en préopératoire le portage de bactéries multirésistantes (BMR) dans divers sites, soit un patient hospitalisé dont on recherche le portage rectal de BMR dangereuses pour la collectivité.
Sur les **1364 écouvillonnages rectaux** (714 patients) et **115 échantillons « préopératoires »** (100 patients), 15% des échantillons sont positifs à *S. aureus*.

Il faut également ajouter **814 ECBU** et **745 échantillons du tractus respiratoire** prescrits par le CLIN dans le but de mettre en évidence une infection nosocomiale. Nous présentons ci-après les résultats 2009 des recherches de BMR. Les données sur 5 ans (2005-2009) sont décrites en page 26.

Nature des échantillons adressés par le CLIN



Principales BMR identifiées dans les prélèvements prospectifs et les écouvillonnages rectaux

Entérobactéries avec ßLSE			**29**	
	dont :	*Klebsiella pneumoniae*	*7*	
		Enterobacter cloacae	*9*	
		Escherichia coli	*9*	
Entérobactéries avec Case HN			**46**	
	dont :	*Enterobacter cloacae*	*23*	
		Escherichia coli	*11*	
		Enterobacter aerogenes	*6*	
Autres BMR			**10**	
		Acinetobacter baumannii	*10*	
		Pseudomonas aeruginosa	*2*	
SARM (Pr^{vt} rectal)		*Staphylococcus aureus MR*	**34**	
SARM (nez, pharynx)		*Staphylococcus aureus MR*	**15**	*15%*

Aucune entérobactérie « BMR » n'a été dépistée dans les prélèvements prospectifs, alors que 34 « SARM » ont été retrouvés dans les prélèvements rectaux. On y a également dépisté quatre entérocoques résistants à la vancomycine, mais un seul s'est avéré être un *E. faecium*, les 3 autres appartenant à des espèces naturellement résistantes.

11. HELICOBACTER PYLORI

Sur **33 biopsies analysées** (24 patients**)**, *Hélicobacter 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 82 souches pour l'identification et/ou l'antibiogramme ou le typage sérologique : 1/3 en provenance des laboratoires des hôpitaux du Nord et 2/3 des laboratoires privés.

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 630 analyses effectuées**,** 184 champignons ont été identifiés (*142 patients*) parmi lesquels 105 *Candida* dont 54 provenaient des voies respiratoires supérieures.

2. PARASITOLOGIE DES SELLES

Sur 1110 examens de selles, 110 parasites ont été retrouvés, dont les principaux sont reportés dans le tableau ci-après. On ne dépiste qu'un faible poly-parasitisme (*12 cas de double infestation*).

Nématodes intestinaux			**74**	***67%***
	dont :	*Ankylostome*	*42*	*38%*
		Strongyloide stercoralis (Anguillule)	*15*	*14%*
		Ascaris lumbricoide	*11*	*10%*
		Trichuris trichiura (Trichocephale)	*5*	
		Enterobius vermicularis:Oxyure	*1*	
Protozoaires			**47**	***43%***
	dont :	*Entamoeba histolytica*	*18*	*16%*
		Giardia intestinalis (Lamblia)	*10*	
		Entamoeba coli	*9*	
		Endolimax nanus	*7*	
		Blastocystis hominis	*3*	

3. MENINGITES A EOSINOPHILES

En 2009, nous avons réalisé la formule cytologique de **119 LCR (93 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 30%, 67% et 75% d'éosinophiles, mais deux autres avaient respectivement 17% et 18% et un tableau clinique compatible. Le nombre de méningites à éosinophiles est stable depuis 5 ans.

HYGIENE HOSPITALIERE

R. Goursaud

Outre la participation du chef de Service de Bactériologie comme membre à part entière des CLIN du CHT G Bourret et du CHS de Nouville, notre contribution à l'hygiène hospitalière, en 2009, s'est conjuguée sous trois formes :

1. Surveillance et diagnostic des infections nosocomiales via des analyses de patients ciblés, prescrites par les services « à risques », essentiellement à travers des ECBU, des écouvillonnages rectaux, des sécrétions respiratoires ;
2. Dépistage et signalement immédiat des BMR isolées au cours d'explorations individuelles de patients hospitalisés dans les deux CHT et le CHS ;
3. Surveillance de l'environnement en collaboration avec les infirmières hygiénistes au moyen d'un programme annuel de prélèvements de surface, de la recherche d'aéro-biocontamination et de la surveillance des eaux et aliments.

Les résultats des analyses ciblées ont été décrits dans le chapitre « Bactériologie ». Lorsque nous identifions des germes particulièrement résistants (BMR), susceptibles d'entraîner une épidémie nosocomiale grave ou d'évoluer vers une impasse thérapeutique, leur présence est surlignée sur le résultat communiqué au service. En outre, chaque semaine un biologiste du service assiste, avec le praticien hospitalier référent en infectiologie, à la visite des services de Réanimation et de Soins Intensifs.
Les résultats de la surveillance des eaux et aliments sont exposés par le Laboratoire Hygiène et Environnement. Nous présentons ici les résultats des surfaces dans les deux établissements hospitaliers (1367 échantillons). Depuis 2009, les surfaces écouvillonnées ont été calibrées à 25cm², mais cette calibration n'a été effectuée qu'au CHT.

Nombre de services concernés par type d'échantillonnage

CHT Gaston Bourret & Magenta		
	Étude des surfaces (Gélose contact)	34
	Étude des surfaces (Ecouvillonnage calibré)	24
	Aéro-bio-contamination (Blocs chirurgicaux)	7
	Systèmes d'aération (Aspergillus)	26
CHS Nouville		
	Étude des surfaces (Gélose contact)	29
	Systèmes d'aération (Aspergillus)	3

1. SURFACES PRELEVEES PAR GELOSES CONTACT (COUNTACT®)

Les critères de jugement appliqués sont ceux de *l'American Society for Microbiology.* Nous avons examiné **592 prélèvements.** Les résultats des services du CHS ne sont toujours pas très satisfaisants, alors que ceux du CHT progressent légèrement. Il persiste un trop grand nombre de résultats inacceptables s'ils ont effectivement été prélevés après bio-nettoyage. Les résultats détaillés sont disponibles sur demande auprès du Dr R. Goursaud (rgousaud@pasteur.nc).

2. SURFACES PRELEVEES PAR ECOUVILLONNAGE CALIBRE

Il est difficile de comparer les valeurs en raison de la variabilité des techniques de prélèvements. Nous recommandons depuis plusieurs années la mise en place d'un« écouvillonnage calibré » pour les zones dont le relief ne permet pas l'emploi de géloses contact Les résultats des **209 échantillons** analysés ont toutefois été classés selon les mêmes critères que les prélèvements par gélose contact. : 25,8% des prélèvements n'étaient pas satisfaisants.

3. SYSTEMES D'AERATION PRELEVES PAR ECOUVILLONNAGE

Ces prélèvements sont uniquement destinés à rechercher la présence éventuelle d'*Aspergillus* dans les dispositifs de ventilation, au niveau des grilles de sortie de l'air pulsé.
Les **215 échantillons** reçus (*212 pour les 26 sites testés des CHT & 3 pour les 3 sites du CHS*) ont donc permis d'isoler 11 *Aspergillus* dont 11 *A. niger* et 4 *A. versicolor*.

4. AERO-BIOCONTAMINATION PRELEVEE PAR IMPACTAGE (SAMPL'AIR®)

Ces prélèvements sont uniquement destinés à dénombrer les germes présents dans l'atmosphère des blocs opératoires et salles stériles, à distance de la présence humaine et pendant le fonctionnement des dispositifs de ventilation à flux laminaire ultra-filtré. Le résultat est indiqué en nombre de colonies au m^3 d'air impacté sous un volume de 100 l/mn, à deux niveaux dans la pièce (*sous les grilles de sortie et au niveau de la table d'opération*). Deux types de gélose sont utilisés pour chaque prise d'essai, l'une destinée à dénombrer les mésophiles, l'autre utilisée pour dénombrer les moisissures. **4 blocs chirurgicaux** ont été ainsi testés : aucun germe ou moisissure n'a été isolé.

LABORATOIRES SERO-IMMUNOLOGIE ET DIAGNOSTIC SPECIALISE

A.C. Gourinat, A Guigon, 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** : amibiase, paludisme, toxoplasmose. 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, qui a permis de conclure à une contamination ancienne >4 mois pour 56% des patientes analysées.
  - la recherche couplée des IgM et des IgA par ISAGA, pour rechercher des IgM non spécifiques en ELISA et augmenter la sensibilité du diagnostic en période néonatale : une positivité franche a été trouvée chez 16% des patientes pour les IgA et 11% pour les IgM.

- **Les infections virales** : rubéole, hépatites virales (anticorps et antigènes), mononucléose infectieuse, infection à CMV (IgG et IgM).

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'activité 2009 a été d'une intensité exceptionnelle pour ce laboratoire qui concentre l'essentiel des programmes de surveillance des maladies infectieuses, parmi elles trois maladies qui ont sévi sous forme épidémique (la dengue, la leptospirose et la grippe). Cette situation s'est traduite par une augmentation de 21% des activités par rapport à 2008. Les données sur la surveillance de ces trois maladies et celle du VIH/SIDA sont présentées de la page 40 à 61.
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).

Les autres examens spécialisés réalisés à l'IPNC sont :

- le diagnostic des **infections à herpesviridés** (immunofluorescence et recherche des génomes viraux HSV ½ par RT PCR sur Light Cycler © avec sondes d'hybridation de type Fret;
- le diagnostic des **viroses respiratoires** (immunofluorescence et RT PCR) ;
- le diagnostic des **infections pneumopathiques atypiques** (*Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydiae pneumonia* par RT-PCR) ;
- le diagnostic des **infections à *Chlamydiae trachomatis*** : recherches d'antigène ou du génome par PCR. La détection d'antigène a été totalement remplacée par la PCR depuis octobre 2009.

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 2009, 3 envois ont été réalisés. Les résultats étaient tous négatifs.

LABORATOIRE D'HYGIENE DES ALIMENTS ET DE L'ENVIRONNEMENT

F. Urbes

1. ACTIVITE ANALYTIQUE

En 2009, un total de **7723** échantillons ont été analysés, soit un nombre d'échantillons stable par rapport à 2008 (7673 échantillons). Ils se répartissent en échantillons alimentaires (40%), d'eaux (46%) et de produits industriels (14%).

1.1 HYGIENE HOSPITALIERE

Les analyses effectuées dans le cadre de la surveillance de l'hygiène hospitalière se répartissent en prélèvements alimentaires et prélèvements d'eaux. Les analyses d'eaux sont en légère diminution par rapport à 2008 (non remplacement de l'infirmière hygiéniste qui assurait les prélèvements).

Les analyses d'eaux (n= 670) sont de nature variées :

- des analyses de la qualité des eaux utilisées pour les soins: analyses très complètes incluant les paramètres Staphylocoques pathogènes et *Pseudomonas aeruginosa*, pour la lutte contre les infections nosocomiales,
- des analyses des eaux utilisées au service d'hémodialyse, incluant le dosage des endotoxines,
- des recherches de Légionelles sur les eaux des ballons d'eaux chaudes,
- des analyses classiques de potabilité (type D1) pour les carafes d'eau et les fontaines réfrigérantes, en cuisine ou dans les services,
- des analyses des eaux de rinçage des endoscopes avec recherche de mycobactéries.

Le taux d'analyses présentant une qualité non-conforme est de 20 %.

En ce qui concerne les aliments, sur les 197 prélèvements analysés (Hôpital de Magenta et points de distribution satellite), **23% ne présentaient pas de résultats microbiologiques satisfaisants**.

1.2 AUTOCONTROLES

1.2.1 Aliments

2886 échantillons alimentaires ont été analysés (nombre relativement constant par rapport à 2008). 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

2352 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).

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. En effet, la DIMENC (Direction de l'Industrie, des Mines et de l'Energie de Nouvelle-Calédonie) a mis en place un meilleur suivi des industriels possédant des tours-aéroréfrigérantes. **Le taux de prélèvements positifs en *Legionella pneumophila* et spp. (32%) est en augmentation par rapport à 2008 (27%)**.

1.2.3 Produits industriels et surfaces des cliniques

403 contrôles de surface des cliniques, 553 analyses de produits industriels pour le compte d'une entreprise locale de produits d'entretien sous licence internationale, et 100 analyses diverses ont été réalisées. Les résultats des analyses de surface sont présentés dans le paragraphe « hygiène hospitalière ».

1.3 CONTROLES OFFICIELS

Il s'agit des analyses de potabilité de l'eau, des eaux de baignade et des eaux de piscine (n= 562), réalisées pour le compte de la DASS en Nouvelle-Calédonie, et pour la DAVAR (Direction des Affaires Vétérinaires, Agricoles et Rurales). Ce chiffre est en forte augmentation (50%) car de nombreuses campagnes d'état de la ressource en eau ont été menées par ces 2 organismes. Une délibération sur la qualité des eaux de baignade et des eaux de piscine est à l'étude.

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

En 2009, 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 la DASS-NC, le CNR des Vibrio (Institut Pasteur Paris) et l'Ifremer à Brest, nous avons participé à l'élaboration d'un plan de contrôle pour la recherche de *Vibrio vulnificus* dans les aliments et les eaux en cas de diagnostic de cette bactérie chez un patient.

3. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Grâce aux efforts de l'ensemble de l'équipe accompagnée d'une révision tarifaire, le LHAE est enfin en équilibre d'exploitation. Ces efforts devront être poursuivis sur 2010 afin de confirmer la bonne santé du laboratoire. Les analyses courantes restent notre activité principale, mais nous cherchons à mettre en avant nos spécificités (recherche des Légionelles, des endotoxines, accompagnement de la filière crevette, mise en place de nouvelles analyses en fonction des besoins de nos clients), qui sont un atout majeur de notre laboratoire.

ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE

DONNEES SUR 5 ANS DES BACTERIES MULTIRESISTANTES EN NOUVELLE-CALEDONIE 26

SURVEILLANCE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES GONOCOQUES EN NOUVELLE-CALEDONIE 31

SURVEILLANCE DU PNEUMOCOQUE EN NOUVELLE- CALEDONIE 34

SURVEILLANCE DES MYCOBACTERIES EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 37

SURVEILLANCE EN NOUVELLE-CALEDONIE 37

ACTIVITES REGIONALES : ETUDE DES SOUCHES DE *M. TUBERCULOSIS* ISOLEES A KIRIBATI 39

SURVEILLANCE DE LA LEPTOSPIROSE EN NOUVELLE-CALEDONIE ET REGION DU PACIFIQUE INSULAIRE 40

SURVEILLANCE DE LA GRIPPE ET AUTRES VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE EN NOUVELLE-CALEDONIE 48

SURVEILLANCE DU VIH EN NOUVELLE-CALEDONIE 55

SURVEILLANCE DE LA DENGUE EN NOUVELLE-CALEDONIE 57

SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE 62

REGISTRE DU CANCER DE NOUVELLE-CALEDONIE 74

DONNEES SUR 5 ANS DES BACTERIES MULTIRESISTANTES EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable :
– Régis Goursaud, médecin biologiste, LABM-bactériologie

Collaborateurs IPNC :
– Sylvain Mermond, médecin biologiste
– Nathalie Rivoire, Nicolas Roquigny, Julie Scotet, internes en biologie
– Ann-Claire Gourinat, Aurélie Guigon, Simon Le Hello, pharmaciens biologistes
– Camille Lethézer, surveillante

Collaborateurs hôpitaux:
– CHT : * Marc Mikulski, président du CLIN, service de réanimation
* Flore LACASSIN, référente infectiologie, service médecine

Nous analyserons plus particulièrement les bactéries multi résistantes **(BMR), les germes de l'environnement à fort potentiel épidémique** ou ceux décrits pour leurs résistances émergentes. Certaines bactéries, notamment **les pneumocoques, les gonocoques et le bacille de la tuberculose**, conservent encore en Nouvelle-Calédonie une sensibilité peu usuelle. Les données de leur résistance sont rapportées dans des chapitres séparés du présent rapport annuel d'activités.

Dans le cadre du CLIN, un dépistage systématique des BMR est réalisé sur divers prélèvements de patients hospitalisés dans des services à risques. Les prélèvements à cibler pour ce dépistage sont les échantillons urinaires et respiratoires, les plaies et suppurations ouvertes, et l'écouvillonnage rectal.

Nous présentons une analyse synthétisée des données cumulées sur 5 ans (2005-2009) des écouvillonnages rectaux, puis des autres sites.

1. BACTERIES MULTIRESISTANTES DEPISTEES DANS LES ECOUVILLONAGES RECTAUX 2005-2009

1.1 MATERIEL ET METHODES

Entre 2005 et 2009, 5 576 échantillonnages rectaux ont été analysés dont 94% provenaient des seuls services de réanimation (49%) et de soins intensifs (45%).

Le dépistage ciblait le portage :
- d'entérobactéries porteuses d'une ß-lactamase de spectre étendue (EBLSE) ou d'une céphalosporinase de haut niveau (CaseHN),
- de bactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) ;
- de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) ;
- d'entérocoques résistants à la vancomycine (VRE).

Pour ce faire, 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.

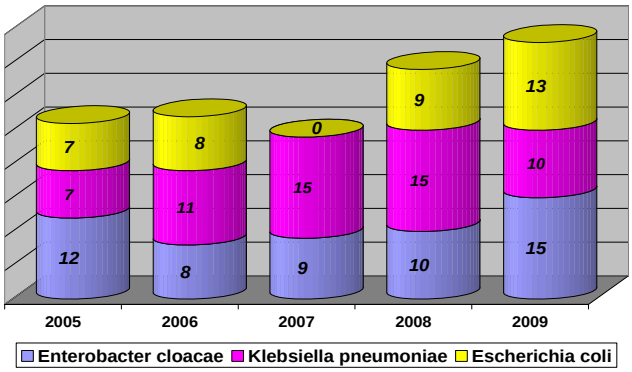
Les germes suspects ont été identifiés et leur mécanisme de résistance confirmé par la recherche d'images de synergie en diffusion (EBLSE), ou la mesure de la CMI à la vancomycine et la téicoplanine (VRE) par les méthodes de référence (E-test).

1.2 RESULTATS

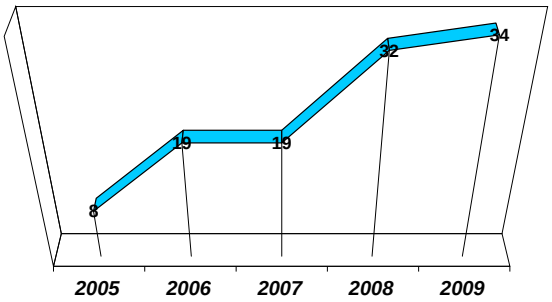
Sur 5 années consécutives, ont été identifiées dans les conditions décrites :
- 166 EBLSE
- 112 SARM
- 245 entérobactéries présentant une CaseHN
- 7 VRE
- 73 autres BMR

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

Principales EBLSE



Evolution annuelle des SARM



Au total 112 **SARM** ont été dépistés avec une augmentation annuelle notable. La proportion de SARM dans les *S aureus* isolés, passe de 0,83% à 2,49% entre 2005 et 2009, atteignant même 2,81% des échantillons en 2008.

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 jugulée. 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 de façon isolée ; l'analyse clonale de cette souche est en cours.

Pour finir, parmi les autres **BMR** retrouvées au dépistage systématique par prélèvement rectal figurent 50 *Acinetobacter baumannii* de phénotype V (résistance à toutes les ß-lactamines et à l'imipénème) produisant une carbapébémase OXA-23 (Le Hello *et al*[1].), et 20 *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la ceftazidime et/ou à l'imipénème, ainsi que 4 *Stenotrophomonas maltophilia*.

1.3 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 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 sont partiellement suivies par le CLIN des CHT de Nouméa. Néanmoins, deux des principaux services à risques ont réalisé un dépistage satisfaisant. La liste des germes à surveiller doit être réactualisée pour suivre les nouvelles recommandations.

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

[2] Hygiènes, 2009 vol XVII, n° 2

En 5 ans, **166 EBLSE** ont été retrouvées chez 103 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.

En ce qui concerne les SARM, leur dépistage en réanimation montre une augmentation inquiétante de leur prévalence. Celle-ci reste cependant faible, ce qui ne justifie pas à ce jour, une extension de la surveillance à d'autres services des CHT.

Il n'est pas habituel de dépister les CaseHN, mais deux facteurs nous ont conduits à maintenir le relevé 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.

2. SURVEILLANCE DES BMR AU SEIN DES ISOLATS CLINIQUES (2005-2009)

2.1 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 nationale*), le Référentiel en Microbiologie Médicale (REMIC V2007) et les recommandations annuelles du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM).

Chaque prescription donne lieu à 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®).

Une fois identifié, le mécanisme de résistance est saisi sur le dossier, puis celui-ci est transmis via le serveur et par une édition mentionnant la recommandation d'isolement à l'aide d'un tampon rouge. Plusieurs modalités de diffusion récapitulative des résultats ont été essayées au sein du CLIN pendant la période considérée, mais aucune n'a été poursuivie pour diverses raisons liées essentiellement à un manque de moyens humains affecté au CLIN.

2.2 RESULTATS

En cinq ans, nous avons isolé 10 978 souches de *S.aureus* chez 5 735 patients différents dont 966 (16,8%) hébergeaient un SARM, ces valeurs intégrant les patients de réanimation/soins intensifs dépistés pour le CLIN.

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 été authentifiée entre 2005 et 2009.

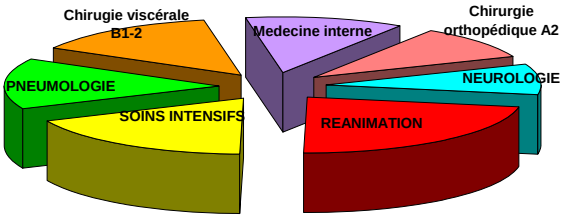
Comparaison du % de SARM selon l'origine

Le pourcentage de **SARM** est quasi identique en milieu hospitalier et en milieu communautaire, mais le nombre de SARM isolés des hôpitaux est 10 fois plus élevé, compte tenu de la spécificité de notre recrutement (*1 468 Vs 133*). A noter que nous avons exclu de la comparaison les analyses ciblées du CLIN, parmi lesquelles les SARM représentent 31% des S. aureus isolés.

Année	EXTERNES	CHT Nouméa
2005	17,1%	14,1%
2006	19,6%	14,4%
2007	13,3%	13,7%
2008	7,2%	8,8%
2009	7,1%	11,6%
Total	**13,0%**	**12,9%**

Les germes exprimant une BLSE sont retrouvés 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 20 625 patients infectés des hôpitaux de Nouméa, 238 hébergeaient une EBLSE, contre 25 des 5 441 patient externes.

Les 7 services ayant le plus de EBLSE



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

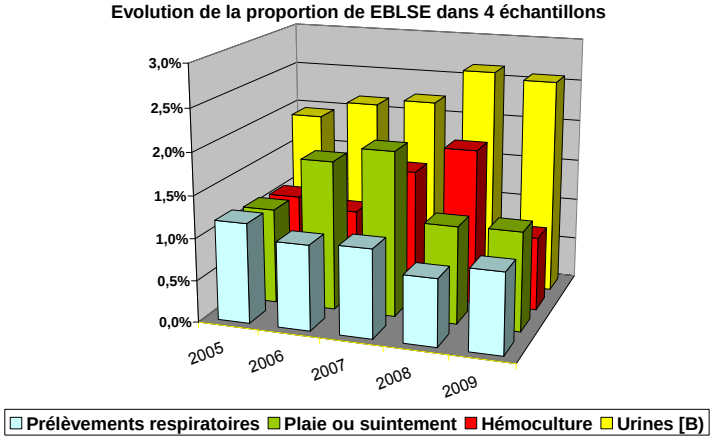
Nombre d'EBLSE selon le type d'échantillon

Echantillons	Total 5 ans	Moyenne/an [mini-maxi]
Urines [B]	**272**	54 [37-69]
Hémoculture	**95**	19 [13-26]
Plaie ou suintement	**78**	16 [12-22]
Prélèvements respiratoires	**69**	14 [11-14]
Collection purulente	**19**	4 [3-5]
Dispositif intra-vasculaire	**19**	4 [2-6]

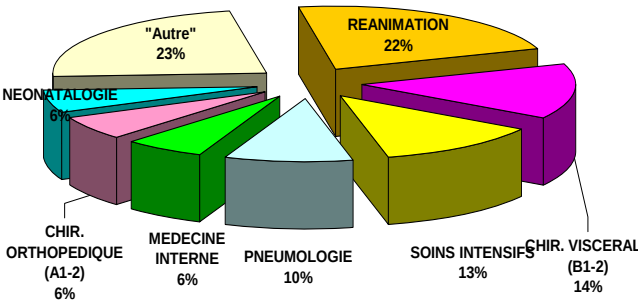
Le tableau ci-contre montre selon le type de prélèvement, le nombre moyen annuel d'EBLSE. 49% de ces bactéries ont été isolées des urines.

L'évolution annuelle du taux de EBLSE est représentée selon le type de prélèvement. Ce taux augmente régulièrement dans les prélèvements urinaires et approche les 3% depuis 2 ans.

Evolution de la proportion de EBLSE dans 4 échantillons



Principaux services hébergeant des patients "CaseHN"



En ce qui concerne les entérobactéries exprimant une **Céphalosporinase de haut niveau (CaseHN),** 457 patients sont porteurs d'une ou de plusieurs de ces bactéries (moyenne annuelle 91 patients). Sept services totalisent 77% des isolements et moins de 1% en milieu communautaire.

Urines, échantillons respiratoires et plaies représentent près de 60% des sites de prélèvements sur lesquels ces germes ont été isolés.

Les **autres BMR** signalées sont des germes de l'environnement hospitalier fréquemment porteurs de résistances acquises et pouvant être impliqués dans des épidémies nosocomiales. Ce sont :

- *Acinetobacter baumannii* 940 souches (550 patients), dont **208** ont été signalées comme résistantes à l'imipénème et/ou à la ceftazidime ;
- *Pseudomonas aeruginosa* 3 035 souches (1 270 patients), dont **155** présentaient des résistances aux C3G ou aux carbapénèmes ;
- *Stenotrophomonas maltophilia* 231 souches dont **55** classées BMR ;
- *Burkholderia cepacia* (**15** souches, 10 patients) *et B. pseudomallei* (**22** souches, 19 patients, dont 11 la seule année 2006) font également partie des germes retrouvés. Sur ce dernier germe, leurs sensibilités sont données dans le tableau ci-dessous. Cette affection, probablement endémique dans le nord de la Nouvelle-Calédonie, donne des tableaux gravissimes lorsqu'elle atteint des patients immuno-compromis.

Germe	**Molécule antibiotique**	**2005-2009**	
Burkholderia pseudomallei (5)		N= 19	S=%
	Pipéracilline		*100%*
	Ticarcilline		*0%*
	Ticarcilline+ Ac. clav.		*100%*
	Cefépime		*0%*
	Ceftazidime		*100%*
	Imipénème		*100%*
	*Aminosides **		*0%*
	Ofloxacine		*0%*
	Ciprofloxacine		*58%*
	Cotrimoxazole		*100%*
	Colistine		*0%*

**** Gentamicine, tobramycine, amikacine et nétilmicine***

2.3 DISCUSSION

Si le taux de SARM identifiés lors du dépistage systématique dans les services à risque (CLIN) reste faible, ce n'est pas le cas en diagnostic de routine dans les échantillons cliniques (13%). Il est remarquable de noter qu'on retrouve le même taux de portage chez les patients externes, attestant de la diffusion de ces souches en communautaire, comme dans de nombreux pays.

Seuls 3% des patients porteurs de EBLSE ont été dépistés « en externe », soit une prévalence de 0,5% en communautaire contre 1,2% dans les hôpitaux de Nouméa. Ces valeurs renforcent la notion que même si ces résistances ont un potentiel de diffusion étendu, elles peuvent être contenues par les règles d'isolement et d'asepsie, alors qu'il est plus difficile d'enrayer la pression de sélection antibiotique à l'origine de la diffusion des autres BMR.

Le nombre de patients porteurs de CaseHN montre une prévalence de ce type de résistance plus élevé que celle des EBLSE. Compte tenu de sa nature généralement chromosomique, il n'a pas été recommandé par la SFHH le dépistage systématique de ces résistances. Toutefois, ces chiffres doivent faire envisager l'application des précautions complémentaires chaque fois qu'un patient héberge une telle bactérie, afin d'en prévenir la diffusion nosocomiale, et soulignent l'importance de réduire la pression antibiotique par une politique de prescription rigoureuse.

Cette politique est mise en œuvre au sein des CHT de Nouméa par le CLIN, avec le concours des praticiens référents en infectiologie et de la pharmacie des hôpitaux en ce qui concerne la prescription d'antibiotiques. Malgré des dysfonctionnements importants liés à des problèmes d'effectifs, 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.

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 permet de dépister précocement l'apparition d'épidémies et d'initier rapidement les mesures pour les endiguer. 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.

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

Responsable :
- Cyrille GOARANT, Dr Vet., Dr Sc.

Collaborateurs IPNC :
- Régis GOURSAUD, médecin biologiste
- Frédérique VERNEL-PAUILLAC, Ingénieure de recherche jusqu'à août 2009
- Carine MAURON, technicienne de recherche à partir de juillet 2009

Collaborations externes
- Robert NICHOLAS (University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, USA)
- Stéphanie GUYOMARD (Institut Pasteur de Guadeloupe)
- Antoine TALARMIN et Elisoa RATSIMA HARINIAINA (Institut Pasteur de Madagascar)
- 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

1. CONTEXTE

Parmi les infections sexuellement transmissibles (IST), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) est un des agents infectieux les plus fréquemment impliqués. Depuis plus de 5 ans, les souches de NG isolées par le Laboratoire d'Analyses Médicales (LABM) de l'IPNC sont sensibles aux antibiotiques.

A partir de 2008, la création (par l'IPNC avec le soutien financier de la DASS) 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 deux occasions lors de l'isolement par un laboratoire privé de souches résistantes à la pénicilline et aux quinolones.

En l'absence de circulation de souches produisant des béta-lactamases, mise en évidence par des tests à la céfinase négatifs, notre laboratoire a développé une technologie de génotypage des déterminants chromosomiques de la résistance à la pénicilline chez les gonocoques pour mieux caractériser ce phénomène. Cette technique moléculaire présente en outre l'avantage de pouvoir éventuellement être mise en œuvre sur des souches non viables transmises par des laboratoires extérieurs distants. L'étude de la présence et de la prévalence de ces mutations de 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.

2. METHODOLOGIE DE L'ETUDE

- Isolement au LABM de l'IPNC ou collecte de souches documentées (même non viables) auprès de laboratoires extérieurs (laboratoires privés, provinciaux, hospitaliers du Nord…).
- Antibiogramme classique 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.

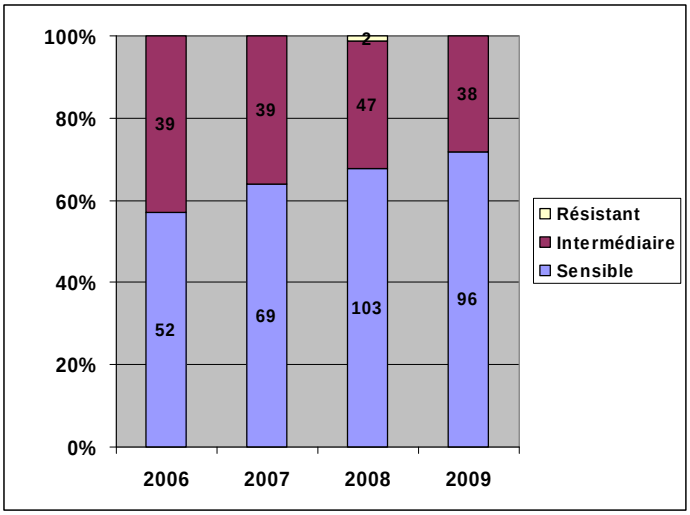
3. BILAN DE L'ANNEE 2009

En 2009, 134 souches de gonocoques ont été collectées et caractérisées à l'IPNC, incluant 13 souches isolées dans le cadre du réseau RESGO. Ces souches proviennent de 69 femmes et 65 hommes, âgés de 15 à 50 ans (moyenne 24,8 ans). Il est à noter, en dehors de souches d'origine génitale, une souche d'origine anale, une issue d'un liquide d'ascite ainsi qu'une provenant d'une hémoculture.

3.1 PHENOTYPES OBSERVES AU COURS DE L'ANNEE 2009

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.

On constate que l'augmentation de la part des souches de sensibilité intermédiaire à la pénicilline, suspectée en 2005-2006, ne s'est pas aggravée ni même poursuivie depuis 2006.



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. Les isolats de patients du CMP ont un phénotype de sensibilité à la pénicilline identique à celui des isolats des autres prescripteurs (proportion de souches à sensibilité intermédiaire de 25,4 % pour les prescriptions du CMP contre 31% chez les autres prescripteurs, écart non significatif).

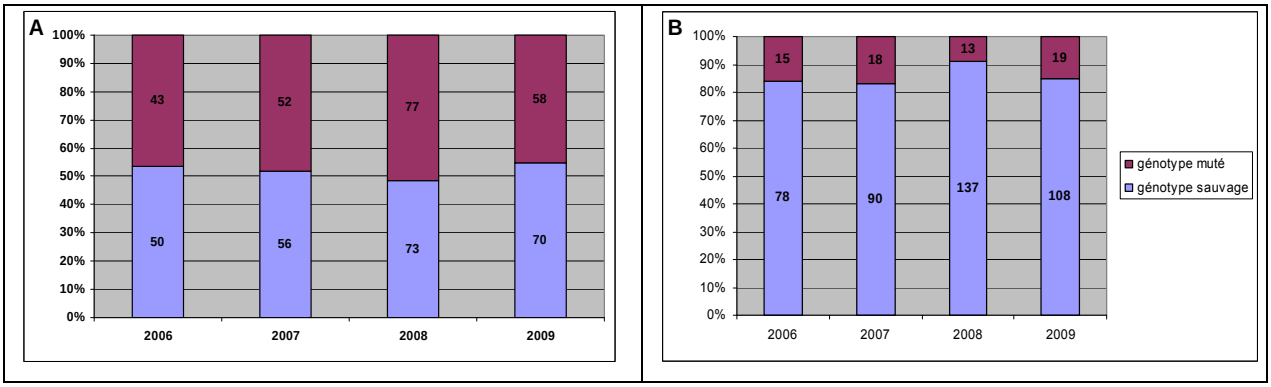
Figure : Phénotypes de sensibilité à la pénicilline G des *N. gonorrhoeae* isolés depuis 2006

3.2 GENOTYPAGE DES DETERMINANTS CHROMOSOMIQUES DE LA RESISTANCE

Le génotypage a été réalisé sur 128 des 134 souches isolées. La souche d'origine australienne qui présentait une résistance aux (fluoro)quinolones était porteuse d'une double mutation sur le gène *gyrA* (S91F/D95N) ainsi que d'une mutation sur le gène *parC* (S87R). La totalité des autres souches était sensible aux quinolones.

Aucune souche productrice de pénicillinase n'ayant été mise en évidence dans ces isolats, 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 *porB1b* 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* (50%) et *ponA* (15%) sont assez fréquentes en Nouvelle-Calédonie, comme le montre la figure ci-dessous.



Fréquence des mutations observées sur les gènes *penA* (A) et *ponA* (B) dans les gonocoques isolés depuis 2006 en Nouvelle-Calédonie

On n'observe pas d'augmentation inquiétante, depuis 2006, de la fréquence de ces mutations dans les isolats calédoniens.

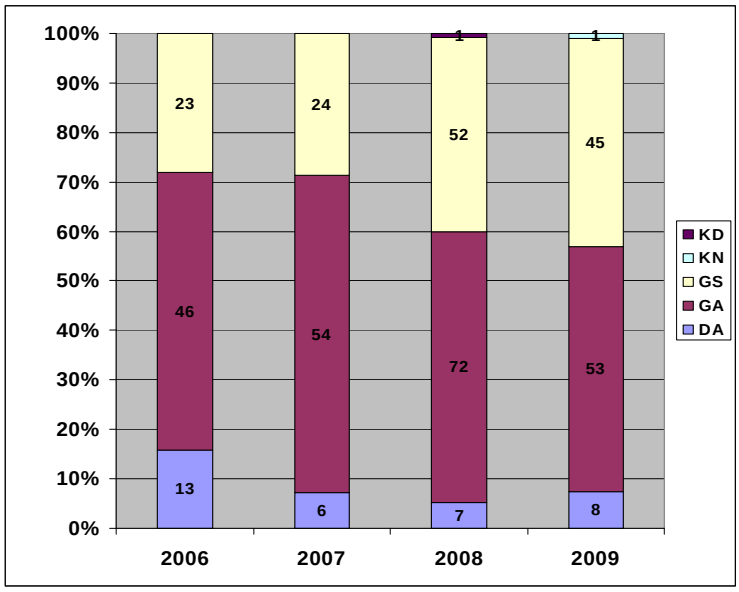
La principale mutation responsable d'une augmentation de l'efflux par le système MtrCDE chez les gonocoques est la délétion d'un A dans la région promotrice du gène du répresseur MtrR. Cette mutation, qui confère une forte diminution de sensibilité à la pénicilline lorsque la porine est altérée, ne circule pas en Nouvelle-Calédonie. Cette mutation bien décrite et circulant largement au niveau mondial n'a été retrouvée que dans l'isolat identifié comme provenant d'Australie.

Néanmoins, une autre altération de la séquence de ce promoteur, en cours de description, consiste en l'ajout d'un T dans cette même région promotrice de mtrR. Cette mutation s'avère être assez fréquente en Nouvelle-Calédonie (17,2% en 2009), mais ne confère toutefois pas une baisse aussi importante de sensibilité.

Enfin, le génotypage de la porine permet à la fois de déterminer la prévalence de chacun des allèles *porB1a* et *porB1b* et de génotyper *porB1b*, allèle dont les mutations ont été montrées induire une baisse de sensibilité à la pénicilline.

L'allèle *porB1a*, connu quant à lui pour favoriser les infections profondes, est retrouvé chez 15% des gonocoques isolés en 2009 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). Cette fréquence est relativement stable depuis plusieurs années.

L'évolution de la fréquence des différents génotypes de la porine porB1b est présentée dans la figure suivante.



Pour les allèles porB1b, les génotypes circulant en Nouvelle-Calédonie sont retrouvés avec une fréquence proche de celle des dernières années. Une seule souche (souche importée d'Australie) comporte une double mutation conférant une forte baisse de sensibilité (KN pour G101K/A102N). Les génotypes ne conférant pas de baisse de sensibilité (G101/A102 génotype sauvage et DA pour G101D) sont retrouvés chez 57% des souches portant l'allèle porB1b. 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 semble toutefois progresser de façon régulière depuis 2006.

Figure : Fréquences des génotypes de l'allèle *porB*$_{1b}$ de la porine dans les gonocoques isolés depuis 2006.

4. VALIDATION MULTICENTRIQUE DES OUTILS DE GENOTYPAGE

Afin d'évaluer la validité et la pertinence des outils de génotypage développés, nous avons souhaité les confronter à une collection d'isolats de NG provenant d'origines géographiques et de phénotypes variés.
Des souches de Madagascar et du Cambodge ont été intégrées au projet grâce à la collaboration des Instituts Pasteur de ces pays, dans le cadre de l'ACIP qui finance ce projet. De même, nous avons ainsi intégré les souches reçues par le LABM de l'IPNC, dans le cadre du contrôle de qualité du réseau de surveillance Asie-Pacifique des gonocoques coordonné par le centre collaborateur OMS Australien.
Ce travail nous a permis de valider nos approches et les outils développés. Il fait l'objet d'une publication.

5. CONCLUSION

Les souches de gonocoques circulant en Nouvelle-Calédonie sont 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 notamment, 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 permis d'éviter leur diffusion en Nouvelle-Calédonie.
Le suivi maintenant pluriannuel ne montre pas d'évolution inquiétante des fréquences des mutations des différents gènes impliqués dans la résistance d'origine chromosomique aux antibiotiques. La progression de la fréquence de la mutation A102S de la porine PorB1b fera l'objet d'une surveillance particulière, parallèlement à la vigilance sur des souches importées.
Les résultats du suivi de l'année 2009 n'impliquent donc pas de modifier la recommandation d'un traitement de première intention par la pénicilline.

SURVEILLANCE DU PNEUMOCOQUE EN NOUVELLE- CALEDONIE

Responsable :
- Sylvain Mermond, médecin biologiste

Collaborateurs IPNC :
- Myrielle Dupont-Rouzeyrol, chercheur, LEM
- Régis Goursaud, médecin biologiste, LABM-Bactériologie

Collaborateurs externes :
- Sylvie Tardieu, médecin biologiste, laboratoire des hôpitaux de la Province Nord
- Nathalie Bringuier, biologiste, laboratoires Calédobio
- Jérôme Collignon, biologiste, laboratoires Alma-Magnin
- Marie Christine Ploy, coordinatrice des ORP, CHU de Limoges
- Emmanuel Varon, Centre National de Référence des Pneumocoques, Paris
- Shahin Oftadeh, Pneumococcal Reference Lab, Centre for Infectious Diseases & Microbiology, Westmead Hospital, Westmead, Australia

1. OBSERVATOIRE DU PNEUMOCOQUE EN NOUVELLE-CALEDONIE

L'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie assume la mission d'Observatoire Régional du Pneumocoque pour la Nouvelle-Calédonie (ORP-NC) depuis janvier 2007, en collaboration avec le Centre National de Référence des Pneumocoques.

L'objectif est de collecter des données sur la résistance aux antibiotiques des pneumocoques en Nouvelle-Calédonie et d'avoir un suivi fiable et exhaustif des infections invasives à pneumocoque (souches isolées de LCR ou d'hémocultures) dans la population générale, et plus spécifiquement chez l'enfant (impact des protocoles de vaccination mis en œuvre sur les sérotypes circulants).

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, en partenariat avec les autres laboratoires du territoire (laboratoires des hôpitaux du Nord et laboratoires privés). L'étude d'un panel représentatif de souches non invasives (souches isolées de pus d'otites moyenne aiguë ou de prélèvements respiratoires) vient compléter l'analyse des souches invasives.

Nous constatons ainsi une augmentation du nombre des souches de pneumocoque isolées en 2009 (148 souches), ce qui semble confirmer la tendance observée en 2008 (128 souches en 2008 et 96 souches en 2007).

Le tableau 1 présente l'origine géographique des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées en 2009 en fonction du prélèvement.

Tableau 1. Répartition des souches par centre et par type de prélèvement dans l'ORP-NC

	TOTAL		IPNC		NORD		PRIVE	
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
Hémoculture	**99**	**66,9%**	63	63,6%	20	20,2%	16	16,1%
Liquide céphalo-rachidien	**10**	**6,7%**	8	80%	2	20%	-	-
Souches respiratoires	**26**	**17,5%**	26	100%	-	-	-	-
Otite moyenne aigue	**12**	**8,1%**	5	41,6%	-	-	7	58,3%
Liquide pleural	**1**	**0,6%**	1	100%	-	-	-	-
NOMBRE TOTAL DE SOUCHES	**148**	**100%**	103	69,6%	22	14,8%	23	15,5%

Dans le cadre du suivi de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques, l'ORP-NC étudie la sensibilité des souches de *S. pneumoniae* aux principaux antibiotiques et détermine de façon systématique la Concentration Minimale Inhibitrice des béta-lactamines (pénicilline G, amoxicilline, céfotaxime) par la méthode de référence (dilution en milieu gélosé).

1.1 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) reste stable en 2009, évaluée à 16,9% ; aucune souche résistante (CMI > 1 mg/L) n'a été observée. A titre comparatif, les PSDP représentaient 37,8% des souches isolées en France métropolitaine en 2005 avec 3,8% de souches résistantes. De la même façon, les souches non sensibles à l'amoxicilline (CMI > 0,5 mg/L) ne représentent que 7,4% des souches analysées en 2009 sans aucune souche résistante (19,9% en France en 2006 dont 1,1% de souches résistantes).

1.2 RESISTANCE AUX MACROLIDES ET QUINOLONES

Parmi les 137 souches étudiées, 1 seule présente une résistance aux fluoroquinolones anti-pneumococciques (test à la norfloxacine positif et diamètre lévofloxacine < 17 mm). Grâce à une utilisation raisonnée des antibiotiques, il apparaît ainsi que la résistance aux fluoroquinolones reste faible en Nouvelle-Calédonie (< 1%).
La résistance aux macrolides concerne 17,5% des souches de pneumocoque isolées en 2009 et reste nettement inférieure à ce qui est observé en France où elle s'élève à 45,8% [1]. Une étude complémentaire menée sur l'ensemble des souches isolées entre le 01/07/2008 et le 30/06/2009 a permis de mettre en évidence :
- la nette prédominance du phénotype MLS_B (85,7% des souches analysées contre 14,3% pour le phénotype M) avec une résistance croisée pour l'ensemble des Macrolides, Lincosamides et Streptogramines du groupe B,
- une prévalence de la résistance aux macrolides significativement plus élevée chez l'enfant que chez l'adulte,
- une nette prédominance du sérogroupe 19 parmi les souches de pneumocoque résistantes aux macrolides.

Tableau 2. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. pneumoniae* étudiées en 2009 par l'ORP-NC

Répartition de la sensibilité des souches aux différents antibiotiques	Sensible		Intermédiaire		Résistant		I+R 2009		I+R 2008
	n	%	n	%	n	%	n	%	%
Pénicilline G* (n = 136)	113	83,1%	23	16,9%	0	0%	23	16,9%	17%
Amoxicilline (n = 136)	126	92,6%	10	7,4%	0	0%	10	7,4%	9,5%
Céfotaxime (n = 136)	130	95,6%	6	4,4%	0	0%	6	4,4%	8,5%
Erythromycine* (n = 137)	113	82,5%	0	0%	24	17,5%	24	17,5%	8,5%
Cotrimoxazole* (n = 135)	8	6%	13	9,6%	114	84,4%	127	94%	78%
Rifampicine (n = 136)**	135	99,3%	1	0,7%	0	0	1	0,7%	0,7%
Pristinamycine (n = 136)	136	100%	-	-	0	0	0	0%	0%
Chloramphénicol* (n = 75)	75	100%	-	-	0	0	0	0%	0%
Tétracycline* (n = 137)	112	81,7%	4	3%	21	15,3%	25	18,3%	11%
Fosfomycine (n = 75)	75	100%	-	-	0	0%	0	0%	0%
Test à la Norfloxacine 5 µg (n = 137)	136	99,2%	-	-	1	0,8%	1	0,8%	7,5%
Lévofloxacine (n = 74)	73	98,6%	-	-	1	0,4%	1	0,4%	1%

*Modification depuis 2009 des valeurs et/ou diamètres critiques dans les recommandations du CA-SFM suite à une harmonisation européenne
**Addition aux recommandations du CA-SFM 2010

1.3 MULTI-RESISTANCE

La multi-résistance, définie chez le pneumocoque par la résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques, reste stable et représente 16% des souches étudiées en 2009. Les antibiotiques les plus souvent impliquées dans la multi-résistance sont : pénicilline G, érythromycine, tétracycline et cotrimoxazole. La figure 1 présente la sensibilité à ces 3 derniers antibiotiques chez les souches sensibles à la pénicilline et chez les PSDP.

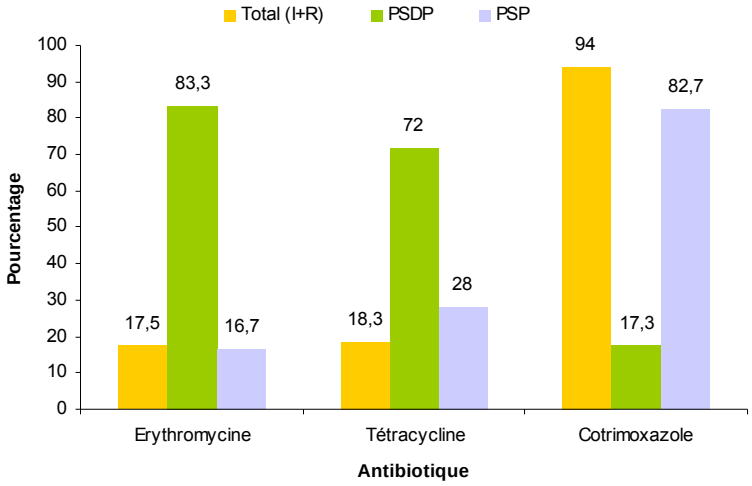


Figure 1. Résistance (%, I+R) du pneumocoque à l'érythromycine, tétracycline et cotrimoxazole

1.4 RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES ET SEROGROUPES

En 2009, la même tendance se dégage par rapport à 2007 et 2008 puisque le sérogroupe 19 représente près de 50% des souches de PSDP (78,9% en 2007 et 70% en 2008). Cette tendance se retrouve également en France métropolitaine où les sérotypes 19F et 19A sont presque constamment résistants aux bêta-lactamines et à l'érythromycine.

2. EVOLUTION DE L'INCIDENCE DES INFECTIONS INVASIVES A PNEUMOCOQUES EN 2009

En 2009, l'ORP-NC a recensé 109 infections invasives à pneumocoque (méningite et/ou bactériémie), ce qui représente une incidence annuelle brute de 15 cas/100 000 habitants. Parmi ces infections, nous notons 10 cas de méningites à pneumocoque confirmés par la culture (9,2% des infections invasives à pneumocoque) correspondant à une incidence annuelle brute de 4 cas/100 000 h. (contre 1,2/100 000 h. en France en 2005).
Chez l'enfant de moins de 16 ans, nous avons enregistré 14 infections invasives à pneumocoque (11 septicémies et 3 méningites dont une objectivée sur la seule positivité des antigènes solubles). Parmi les sérotypes identifiés, 2 sont inclus dans le vaccin conjugué heptavalent (PCV7) en place en Nouvelle-Calédonie depuis 2004-2005 ; **8 sérotypes invasives isolés en 2009 ne sont pas couverts par le PCV7**. Le sérogroupe le plus fréquent est le sérogroupe 12 (n = 4) et ne sera pas couvert par le nouveau vaccin à 13 valences. Pour 2 souches (sérogroupe 19) une étude complémentaire est indispensable pour déterminer le sérotype en cause.
Le statut vaccinal des enfants ayant fait une infection invasive à pneumocoque en 2009 n'est pas connu par l'ORP-NC (données non communiquées).
Parmi les souches invasives, les PSDP représentent 10% (11/109). Une seule souche isolée chez l'enfant (hémoculture) était de sensibilité diminuée mais avec des CMI à l'amoxicilline et au céfotaxime ≤ 0,5 mg/L. Dans les LCR chez l'adulte, une souche était de sensibilité diminuée et présentait une CMI au céfotaxime = 0,5 mg/L. Sur les 9 PSDP isolés d'hémocultures chez l'adulte, il n'a pas été retrouvé de souches résistantes à l'amoxicilline ou au céfotaxime (CMI pour l'amoxicilline à 2 mg/L pour une souche).

La poursuite de la surveillance devra permettre :

- de suivre l'évolution de l'incidence des infections invasives chez les jeunes enfants en fonction de leur statut vaccinal par le Pn7,
- de déterminer les sérotypes circulants et d'objectiver un éventuel glissement sérotypique vers des sérotypes non vaccinaux,
- de déterminer la concordance entre les sérotypes circulants et les nouveaux vaccins mis sur le marché,
- de suivre la résistance aux antibiotiques des souches de pneumocoque circulant en Nouvelle-Calédonie et d'identifier les mécanismes en cause (génotypes responsable de la résistance aux macrolides, diffusion d'un clone),
- d'objectiver l'effet indirect de la vaccination dans les groupes non vaccinés (enfants/adultes).

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
- Communauté du Pacifique Sud

SURVEILLANCE EN NOUVELLE-CALEDONIE

L'IPNC est le laboratoire de référence des mycobactéries pour la Nouvelle-Calédonie. Nous communiquons aux autorités sanitaires tout nouveau cas bacillifère de tuberculose, ainsi qu'un rapport mensuel comportant les résultats nominatifs (ED, Culture & sensibilité) pour les patients positifs. Nous participons également à deux séances annuelles de formation des équipes de lutte contre la Tuberculose.

1. ANALYSE PAR PRELEVEMENTS

Pour l'année 2009, 4522 échantillons ont été reçus pour la recherche de mycobactéries. 140 examens directs (ED) étaient positifs, soit 33 patients (20 BK, 4 MAT et 9 négatifs en culture).

2009	A	Dtx	P0	P1	P2	P3	Total ED+I
ED	4382	8	47	29	30	26	140

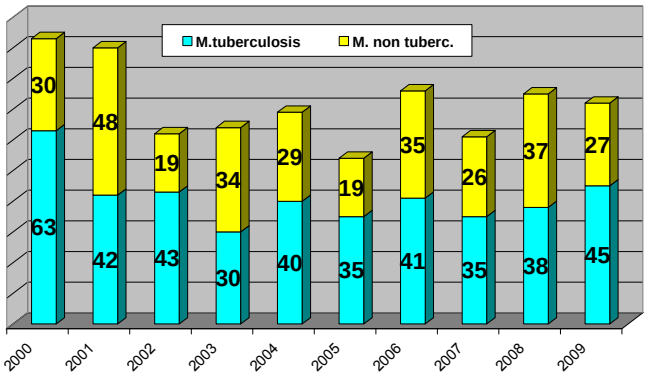
A : absence de BAAR; DTX = 3 bacilles pour 200 champs ; P0 < 10 pour 100 champs (X 1000) ; P1 100 à 99 bacilles pour 100 champs ; P2 1 à 9 bacilles par champ ; P3 > 10 bacilles par champ

Au total, 223 cultures étaient positives, correspondant à **87 patients,** parmi lesquels 72 sont des nouveaux cas et 25 autres étaient de suivis de patients dépistés précédemment.

1.1 REPARTITION DES RESULTATS PAR PATIENTS (NOUVEAUX CAS)

Ces **4522 prélèvements (1576 patients)** ont permis de diagnostiquer **45 nouveaux cas de tuberculose** et **27 porteurs d'une mycobactérie atypique**. Par rapport à l'an passé, on note un accroissement de 25% des prélèvements reçus, (17% en nombre de patients, bien corrélé à l'augmentation des nouveaux cas) évoquant un dépistage des contacts plus efficace. 20 des 45 patients positifs avaient au moins un examen direct avec des BAAR (soit une sensibilité de 45%).
L'hôpital de Wallis et Futuna nous a adressé 250 prélèvements (86 patients) parmi lesquels seuls 5 se sont révélés positifs en culture (3 BK et 2 à mycobactéries non tuberculeuses).

Evolution en Nb de patients 'Culture Positive'



2. ANALYSE PAR PATIENT TUBERCULEUX

Nous avons considéré comme bacillifère un malade avec un examen microscopique positif, soit dans une expectoration, soit dans un tubage gastrique. Les 18 nouveaux bacillifères ont été diagnostiqués à partir d'au moins une expectoration. (169 tubages ont été examinés, négatifs pour la quasi-totalité ; seuls 2 étaient positifs mais l'expectoration prélevée le même jour l'était aussi).

Formes Pulmonaires								Formes Extra-Pulmonaires				Total			
Bacillifères				Non-Bacillifères											
2006	2007	2008	2009	2006	2007	2008	2009	2006	2007	2008	2009	2006	2007	2008	2009
12	11	17	18	25	17	12	19	2	7	8	8	39	35	38	45

Le nombre de nouveaux patients tuberculeux est en légère augmentation, après une baisse continue depuis 2000. La proportion de bacillifères représente 49% des formes pulmonaires.

3. RESISTANCE DES MYCOBACTERIES AUX ANTITUBERCULEUX (2005-2009)

Depuis fin 2005, nous étudions, par la méthode des proportions simplifiée, la sensibilité des souches de chaque nouveau tuberculeux, dépisté par isolement d'un *M. tuberculosis*, vis-à-vis de l'Izoniazide, l'Ethambutol, la Rifampicine et la Streptomycine.

Une vigilance clinique permet aux cliniciens de cibler les patients présentant une observance déficiente ou dont l'amélioration clinique n'est pas satisfaisante. En cas de persistance d'une culture positive entre le 4ème et le 6ème mois de traitement, un nouvel antibiogramme est réalisé.

Seules huit souches ont été investiguées en 2005. De 2006 à 2009, nous avons réalisé successivement 39, 35, 38 et 46 mycobiogrammes qui ont permis de dépister 13 souches incomplètement sensibles aux 4 antituberculeux majeurs testés.

Parmi ces treize souches, sept présentaient une sensibilité diminuée à la seule streptomycine sans incidence clinique, puisque cette molécule n'est pas utilisée dans le programme de lutte en Nouvelle-Calédonie. Les six autres souches étaient résistantes à l'Izoniazide et à la Streptomycine. Toutes ces dernières se sont révélées à l'enquête être des résistances consécutives à une contamination par le cas index dépisté en 2006. Ce cas index était lui-même un contact d'un cas dépisté près de 8 ans auparavant, mais ce sujet s'était dérobé à toute investigation et avait été perdu de vue.

Les 4 derniers cas ont été dépistés en septembre 2008, et aucun nouveau cas ne s'est déclaré chez les sujets contacts de ces six patients.

Cet épisode souligne également l'utilité de réaliser de façon exhaustive la surveillance de la sensibilité des bacilles tuberculeux isolés. La technique retenue, méthode de référence, est longue et fastidieuse et apporte peu d'informations exploitables au plan individuel. Elle a cependant l'avantage d'être la moins coûteuse compte tenu du faible effectif surveillé, et permettrait de dépister dans des délais raisonnables l'émergence éventuelle de souches résistantes importées.

4. ANALYSE DES PATIENTS PORTEURS DE MYCOBACTERIES ATYPIQUES

Nous avons isolé 28 mycobactéries non tuberculeuses chez 27 patients, dont 26 sur des prélèvements d'origine pulmonaire et une biopsie cutanée (*M. marinum*). Quatre de ces prélèvements avaient des BAAR détectables à l'examen direct, et la plupart des cultures montraient un nombre limité de colonies (8 avaient moins de 10 colonies et six seulement plus de 20).

4.1 REPARTITION DES ESPECES DE MYCOBACTERIES ATYPIQUES

Groupe I, mycobactéries photochromogènes			
M. kansasii	1	*M. marinum*	1
Groupe II, mycobactéries scotochromogènes			
M.gordonae	6	*M. flavescens*	1
M. scrofulaceum	1		
Groupe III, mycobactéries non chromogènes			
M. avium /IC	6		
Groupe IV, mycobactéries à croissance rapide			
M. fortuitum	2	*M. smegmatis*	1
M. fallax	2		
Mycobactéries atypiques non identifiables localement :	6		

NB : en raison d'une approche limitée aux tests culturaux et biochimiques, l'identification n'est que « présomptive »

5. *MYCOBACTERIUM LEPRAE*

Nous avons réalisé 48 examens microscopiques (16 dossiers) pour 15 patients. Parmi ces 15, 13 étaient positifs, dont **quatre nouveaux cas.**

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Nombre d'examens (OD+OG+N)	312	183	189	113	70	68	38	71	48
Nombre patients positifs	25	14	10	11	8	11	9	15	13
Nombre nouveaux cas			2	6	0	1	2	6	4

A noter que seules 36% des lames positives présentaient des BH décelables sur le mouchage nasal.

ACTIVITES REGIONALES : ETUDE DES SOUCHES DE *M. TUBERCULOSIS* ISOLEES A KIRIBATI

1. CONTEXTE

Fin 2005, l'OMS alertait sur l'augmentation constante du taux d'incidence de la tuberculose dans le territoire de Kiribati, incidence la plus élevée de tout le Pacifique Ouest. Aucune donnée n'était disponible sur la sensibilité des souches aux anti-tuberculeux.

Simultanément à la mise en place d'un plan de lutte au moyen de traitements directement supervisés (« DOT »), un projet de détermination de la sensibilité des souches et de leur éventuel mécanisme de résistance, complété par une étude épidémiologique moléculaire a été confiée à la CPS (Secrétariat de la Communauté du Pacifique).

2. MATERIEL ET METHODES

La collecte des échantillons à Kiribati s'est déroulée de février 2008 à fin octobre 2009. Les crachats sont conservés « au frais » sans conservateur, et expédiés périodiquement par lot à l'IPNC, sans garantie objective du respect de la chaîne du froid.

L'IPNC a été chargé de contrôler l'examen direct en microscopie optique (coloration à l'auramine et Zielh-Neelsen), de mettre en culture (2 tubes LJ & Coletsos) et d'identifier les colonies de mycobactéries (hybridation par sonde), puis d'expédier les souches de BK au Laboratoire Cerba pour les antibiogrammes (MGIT Bactec). Un extrait d'ADN (Instagène-matrix Biorad) était ensuite envoyé en carboglace au Burnet Institute à Melbourne (Australie) pour le génotypage des BK.

3. RESULTATS

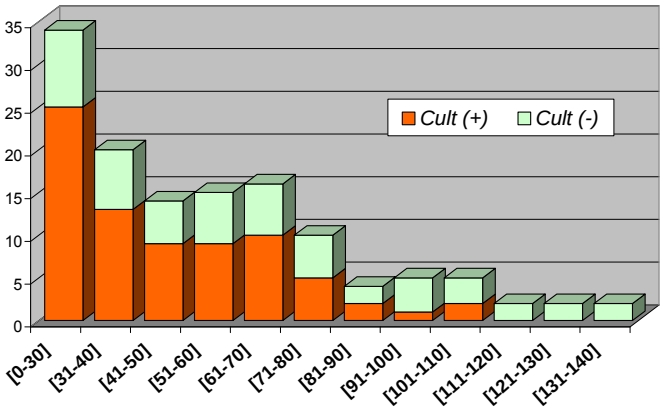
Au total nous avons reçu 167 crachats. Les délais entre la réception et le prélèvement variaient de 10 à 135 jours (médiane 49 jours). Ce délai de transmission a vraisemblablement été déterminant dans le succès des cultures, comme le montre le graphique ci-contre.

La richesse bacillaire de l'échantillon semble moins nettement impliquée (*graphique ci-dessous*).

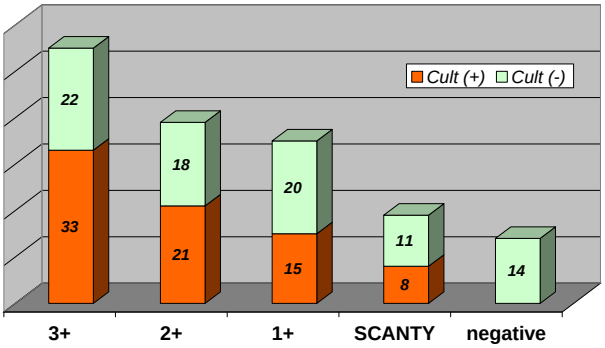
La culture n'a été positive que pour 48% (80) des crachats : 77 cultures ont été identifiées comme *M. tuberculosis*.

Parmi les souches de BK isolées, 14 sont apparues au-delà de 28 jours d'incubation.

Proportion C+/C- selon délai acheminement



Proportion C+/C- selon examen direct initial



(*11 au cours du 2 ième mois et 3 avant le 3ième mois*). En raison de la date de fin d'étude, 3 souches n'ont pu être incluses dans l'envoi d'ADN ni testées pour leur sensibilité.

Toutes les 74 souches testées sont sensibles à l'izoniazide, à l'Ethambutol et à la Rifampicine ; et 3 souches présentent une perte de sensibilité à la Streptomycine (deux intermédiaires, une résistante).

4. CONCLUSION

Sans anticiper sur les résultats de l'épidémiologie moléculaire, cette étude confirme la bonne sensibilité au traitement des souches en circulation, et laisse à penser que l'application stricte du traitement recommandé permettra de diminuer le taux d'incidence de cette maladie.

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

Responsable :
- Aurélie Guigon, pharmacien biologiste (jusqu'au 15 juin 2009)
- Ann-Claire Gourinat, pharmacien biologiste (à compter du 16 juin 2009)

Collaborateurs IPNC :
- Cyrille Goarant, vétérinaire et Dr Sc
- Frédérique Vernel-Pauillac, ingénieur de recherche (jusqu'à août 2009)
- Julie Pérez, VCAT

Collaborateurs externes :
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- Institut Pasteur du Cambodge
- Agence de Santé de Wallis & Futuna

Introduction

La leptospirose est considérée comme la zoonose (maladie commune à l'homme et à une ou plusieurs espèces animales) la plus répandue au niveau mondial. Elle est aussi fréquemment décrite comme une maladie tropicale émergente. 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.

En Nouvelle-Calédonie, ainsi que dans les autres collectivités Françaises du Pacifique, 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.

Cette maladie a été étudiée de façon historique à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC), notamment dans le laboratoire des Leptospires, précurseur de l'actuel Laboratoire de Recherche en Bactériologie. L'IPNC a ainsi développé les outils utiles à son diagnostic et à son étude, et acquis au cours des années une expertise reconnue sur cette maladie. La totalité des examens nécessaires au diagnostic biologique de la Leptospirose prescrits sur le Territoire sont traités par l'IPNC. Cette situation confère aux résultats du laboratoire un intérêt épidémiologique certain.

En 2009, la situation a été extrêmement similaire à celle de l'année 2008. En effet, l'année 2009 a été également marquée par une pluviométrie très importante par rapport aux valeurs normales, sous l'influence persistante du phénomène climatique « la Ninã », ce qui contribue sans doute à expliquer un nombre de cas diagnostiqués très important par rapport aux années précédentes. Dans le même temps, le laboratoire a été sollicité tout au long de l'année pour des prélèvements d'origine régionale, essentiellement transmis par l'Agence de Santé de Wallis & Futuna, territoire dans lequel cette maladie a une incidence parmi les plus importantes au monde.

1. CONTEXTE 2009

Comme en 2008, la Nouvelle-Calédonie a connu en 2009 deux situations particulières qui ont pu contribuer à une très nette augmentation du nombre d'analyses réalisées pour diagnostiquer la leptospirose à l'IPNC, ainsi qu'à l'importance du nombre de cas confirmés au laboratoire :

- une situation météorologique marquée par de fortes précipitations sous l'influence du phénomène « la Ninã », qui a engendré des inondations très importantes notamment en Province Nord au cours du 1er semestre.
- Un contexte d'épidémie de dengue (notamment avec l'arrivée de la dengue de type 4), dont un des diagnostics différentiels est la leptospirose (fièvre importante, myalgies, signes hémorragiques par exemple). De ce fait, les cliniciens de Nouvelle-Calédonie ont donc très régulièrement demandé en parallèle pour leurs patients, des examens biologiques de dengue et de leptospirose.

2. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE

2.1 PARAMETRES DIAGNOSTIQUES

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

Le test le plus ancien et le plus connu des praticiens pour le diagnostic de la leptospirose est celui 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 10 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). Au besoin, en particulier à l'occasion d'enquêtes régionales, le panel complet (23 antigènes) est utilisé. 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.

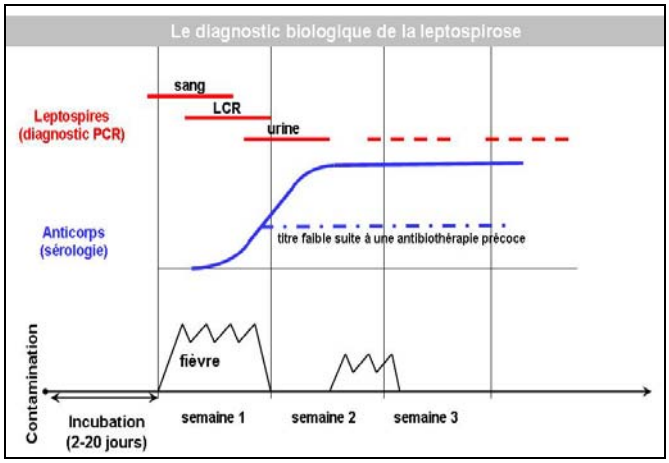


Figure n°1 : Positivité des tests de diagnostic biologique de la leptospirose en fonction du délai d'apparition des signes cliniques.

Interprétation des résultats des tests diagnostiques leptospirose

Cas probable	un prélèvement unique 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 2009

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

Année		2004	2005	2006	2007	2008	2009
Nombre d'échantillons testés		1208	1195	1196	1310	2823	**4512**
Nombre d'analyses réalisées	sérologies MAT	1208	1195	1196	1277	2607	**4479**
	tests PCR	130	202	322	252	674	**936**
	Total	1338	1338	1518	1518	3281	**5415**
Patients testés positifs pour la leptospirose		52	67	99	110	210	**214**
% positifs		4,3 %	5,6 %	8,3 %	8,4 %	7,4 %	**4,7%**

L'activité de 2009 a donc été considérablement supérieure à la moyenne. En plus des conditions pluviométriques exceptionnelles, cette augmentation reflète à la fois une réelle augmentation du nombre de cas dépistés (deux fois supérieur à la moyenne des 5 dernières années), une meilleure sensibilisation des médecins et une augmentation des demandes de diagnostic différentiel liée à l'épidémie concomitante de dengue. Le taux de confirmation (4,7%) plus faible par rapport aux années antérieures conforte cette dernière hypothèse.

3.2 RESULTATS GLOBAUX POUR LA NOUVELLE-CALEDONIE

3.2.1 Activité et nombre de cas

Année 2009		2009 (activité locale Nouvelle-Calédonie)
Nombre d'échantillons testés		4402
Patients testés positifs pour la Leptospirose	cas confirmés	91
	cas probables	72
	Total	163

Parmi les 163 cas diagnostiqués au laboratoire :

- **21 cas** l'ont été par séroconversion ou séroascension ;
- **57 cas** l'ont été par PCR uniquement ;
- **13 cas** l'ont été par PCR + sérologie ;
- **72 cas** l'ont été par une sérologie MAT positive sur un prélèvement.

3.2.2 Évolution au cours de l'année

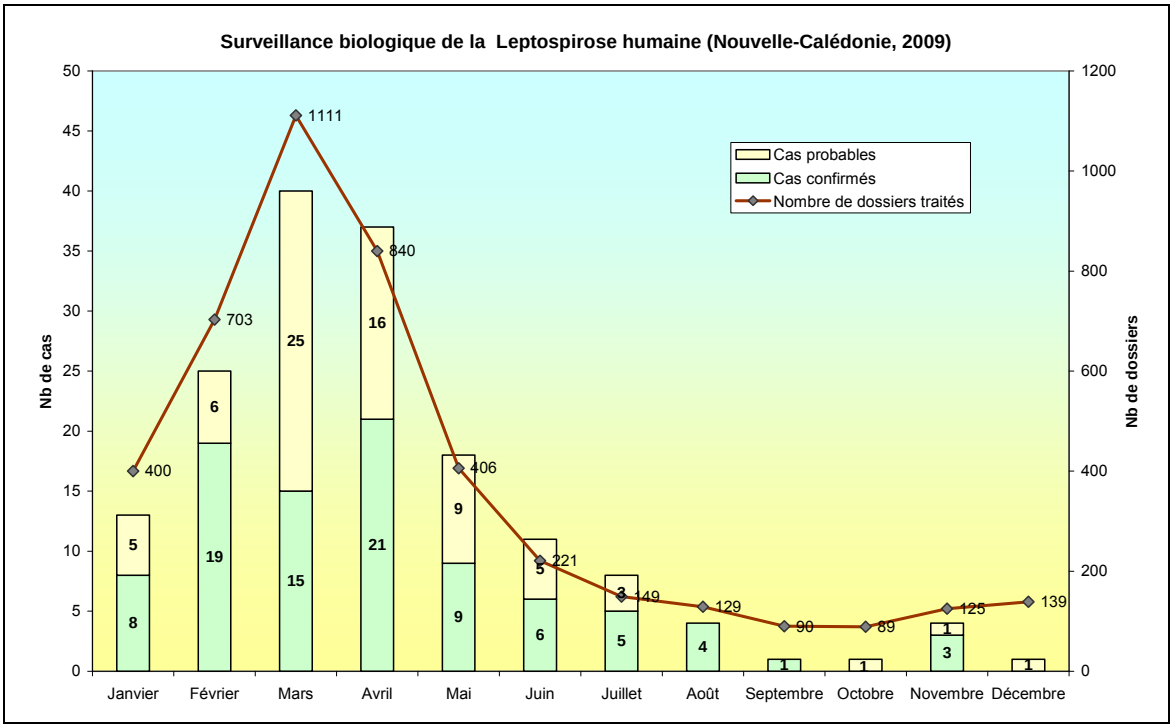


Figure 2 : Évolution mensuelle du nombre de patients testés et des cas positifs de leptospirose.

Comme le montre la figure n°2, une nette recrudescence des cas a été observée au cours des mois de février à avril, phénomène bien connu en Nouvelle-Calédonie et qui est mis en relation avec les importantes précipitations mesurées au cours de cette période. Ainsi 40 cas ont été reportés pour le seul mois de mars 2009 (contre 10 au mois de mars 2007, année non épidémique). Le premier semestre regroupe ainsi 144 cas, soit 88% des cas de l'année. Néanmoins, la mise en évidence de cas tout au long de l'année illustre bien l'endémicité de cette maladie en Nouvelle-Calédonie.

3.3 DONNEES CONCERNANT LES CAS POSITIFS DE LEPTOSPIROSE - EN COLLABORATION AVEC LA DASS DE NOUVELLE-NALEDONIE

3.3.1 Origine géographique des malades (commune de résidence)

La carte suivante (figure n°3) montre une distribution large de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie, touchant les Provinces Nord et Sud. La province des Iles ainsi que l'Ile des Pins restent apparemment épargnées par cette maladie, bien qu'il soit également possible qu'un traitement empirique soit mis en place, du fait du caractère urgent et des difficultés d'acheminement des échantillons.

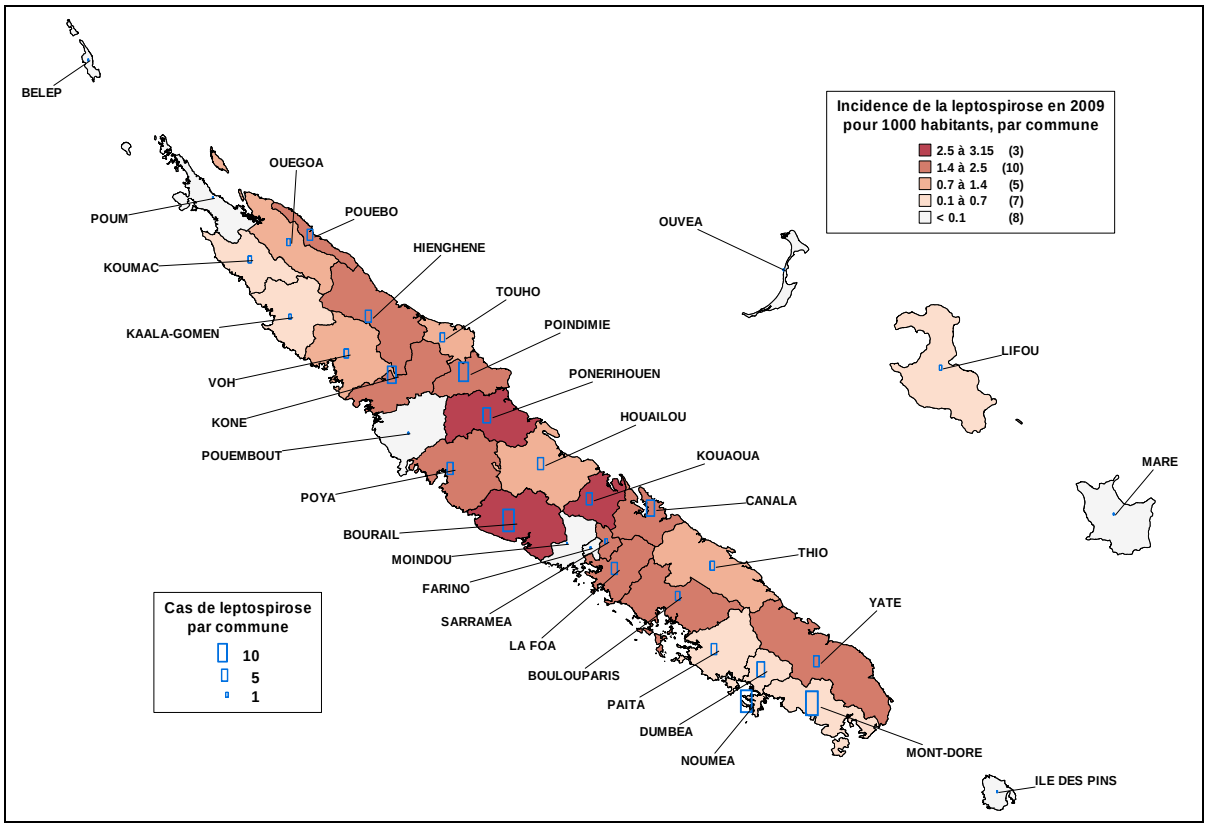


Figure 3 : Répartition géographique des cas de leptospirose en 2009 et incidence pour 1000 habitants.
Il convient de noter que 21 cas (~13%), dont la domiciliation est restée inconnue, ne sont pas représentés.

3.3.2 Age et sexe des malades

Le sex ratio M/F est de 1,76 (104 patients masculins sur 163 cas). L'âge moyen est de 35,7 ans [1 - 80 ans]. La répartition des malades par tranche d'âge se présente de la façon suivante :

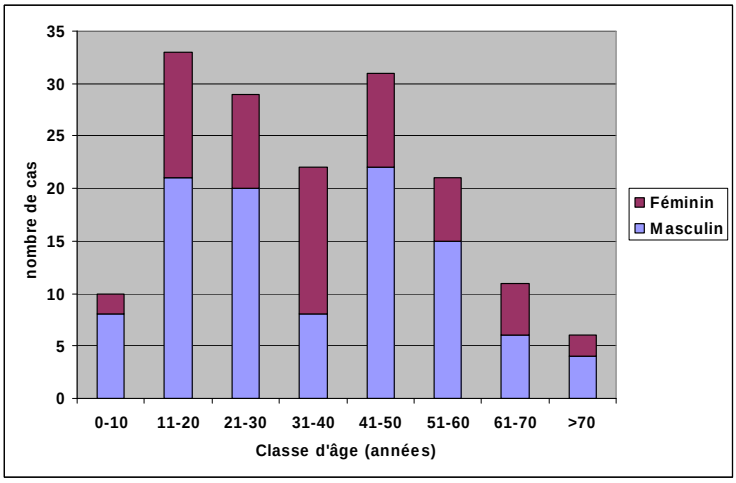


Figure 4 : Répartition des cas de leptospirose de 2009 par tranche d'âge et par sexe

Ces éléments sont extrêmement proches de ce qui a été observé en 2008, ainsi qu'au cours d'autres épisodes épidémiques.

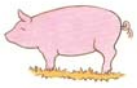
3.3.3 Signes cliniques

Le tableau suivant est établi à partir des fiches de renseignements accompagnant 1202 demandes d'examens (dont 72 cas confirmés ou probables sur les 163 mis en évidence en 2009). Les symptômes classiques de la leptospirose ont constitué des critères de recrutement des patients.

	Cas positifs	Cas négatifs	Odds ratio	IC 95%	
Fièvre	88%	80,1%	1,74	[0,85-3,55]	Non significatif
Céphalées	78%	66,5%	1,77	[1-3,13]	Non significatif
Myalgies	75%	56,2%	2,34	[1,36-4,04]	**significatif**
Suffusions conjunctivales	29%	10,5%	3,5	[2,03-6,02]	**significatif**
Ictère	35%	6,8%	7,27	[4,25-12,44]	**significatif**
Syndrome rénal	24%	6,1%	4,75	[2,62-8,62]	**significatif**
Syndrome hémorrhagique	10%	2,7%	3,95	[1,67-9,33]	**significatif**
Syndrome méningé	3%	1%	2,91	[0,63-13,38]	Non significatif
Syndrome cardiaque	7%	1,1%	6,95	[2,38-20,3]	**significatif**

3.3.4 Facteurs d'exposition

Les tableaux suivants sont établis à partir des fiches de renseignements accompagnant 1202 demandes d'examens (dont 72 cas confirmés ou probables sur les 163 mis en évidence en 2009). Le taux de retour des fiches de renseignements, de 44%, est faible et peu satisfaisant. De ce fait, la puissance statistique est diminuée et certaines situations constituant des facteurs de risque avérés lors des autres épidémies (exposition aux bovins et porcins) ne sont pas mises en évidence par les données de 2008.

	Animaux	bovins	porcs	chevaux	chiens	Rats/souris	Cerfs
							
Odds ratio	2,09	1,30	1,77	3,04	1,96	3,73	1,78
IC 95%	[1,17-3,74]	[0,61-2,79]	[0,94-3,32]	[1,79-5,17]	[1,18-3,24]	[2,3-6,05]	[0,82-3,85]
	significatif	Non significatif	Non significatif	**significatif**	Non significatif	**significatif**	Non significatif

Les activités de pêche ou de baignade en eau douce et de chasse constituent également des facteurs significatifs d'exposition.

	Pêche	Baignade	Chasse
Odds ratio	2,47	2,55	2,70
IC 95%	[1,43-4,25]	[1,58-4,12]	[1,52-4,81]
	significatif	**significatif**	**significatif**

Il demeure intéressant de noter que les populations calédoniennes sont souvent exposées à ces situations à risque dans leur environnement quotidien.

3.3.5 Mortalité

Parmi les 163 cas de leptospirose, 2 patients sont décédés de causes directement imputables à cette maladie (2 hommes, 24 et 42 ans), soit une mortalité globale de 1,2%. Ce taux de mortalité est à nouveau faible comparé aux taux de mortalité de la leptospirose rencontrés dans la littérature. Ce faible taux est lié à la bonne connaissance de la maladie par les cliniciens du territoire, à la rapidité de la mise en place d'un traitement adapté, mais également à l'accessibilité du diagnostic biologique précoce par PCR.

3.3.6 Sérogroupes identifiables parmi les cas positifs (101 sur 163)

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 *Icterohaemorragieae* est le plus fréquemment impliqué dans les cas diagnostiqués en 2009.

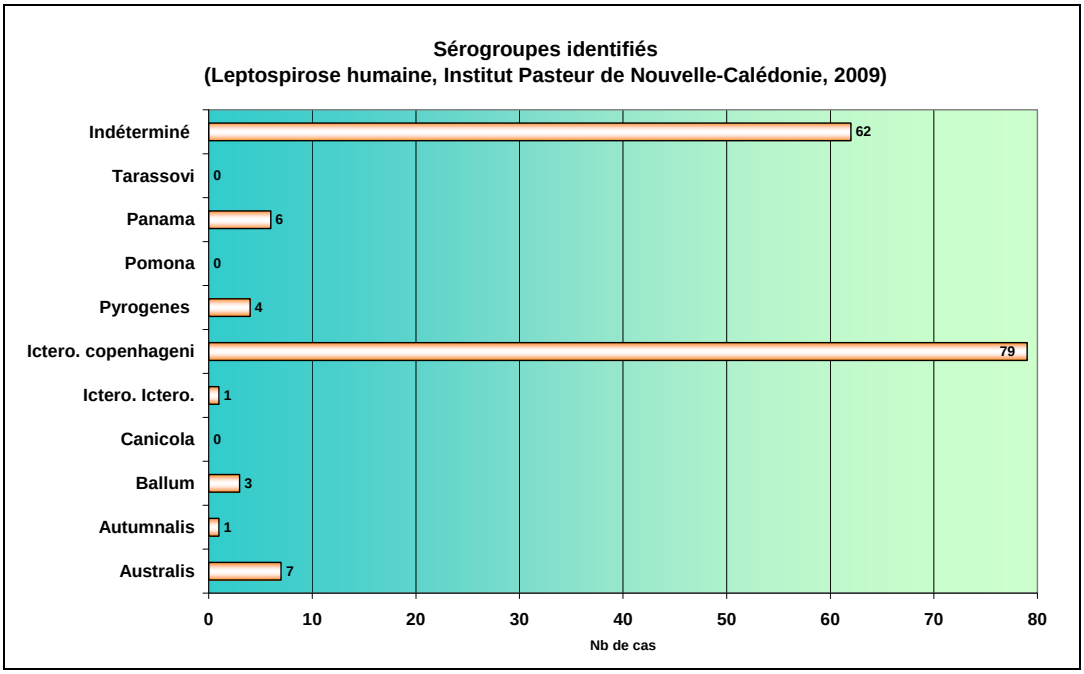


Figure 5 : Sérogroupes identifiés parmi les cas de leptospirose en 2009
(cas indéterminés = PCR positive seule ou sérologie MAT positive avec coagglutination)

3.3.7 Espèces génomiques et génotypes identifiables

Soixante dix cas sur les 163 diagnostiqués (43%) l'ont été par PCR, ou par combinaison de la PCR et de la sérologie. La PCR en temps réel utilisée à l'IPNC (Mérien et al., 2005)[1] permet la différentiation de plusieurs espèces génomiques de Leptospira en fonction du Tm. Des travaux antérieurs (Salaun et al, 2006)[2] ont permis

de montrer qu'à priori, seules 2 espèces de Leptospira étaient présentes sur le territoire calédonien, *Leptospira interrogans* et *Leptospira borgpetersenii*.

Le séquençage du produit de la PCR diagnostique permet, grâce au polymorphisme de séquence, d'établir une phylogénie des Leptospires impliqués dans les cas humains et de proposer une identification présomptive à un ou quelques sérogroupes dont les séquences sont disponibles dans les bases de données de séquences publiques. Les résultats de ce travail sont illustrés par la figure 6. Ces résultats, obtenus sur des bases génétiques, confirment l'implication majoritaire probable du sérogroupe *Icterohaemorragieae*, ainsi que l'implication de seulement 2 espèces dans les cas humains de leptospirose en Nouvelle-Calédonie. Ils illustrent également la diversité des sérovars minoritaires et mettent notamment en évidence un sérovar inconnu à ce jour. Des souches présentant ce dernier génotype ne sont pas exceptionnelles et l'une d'elle a notamment été considérée comme responsable d'un décès en 2009.

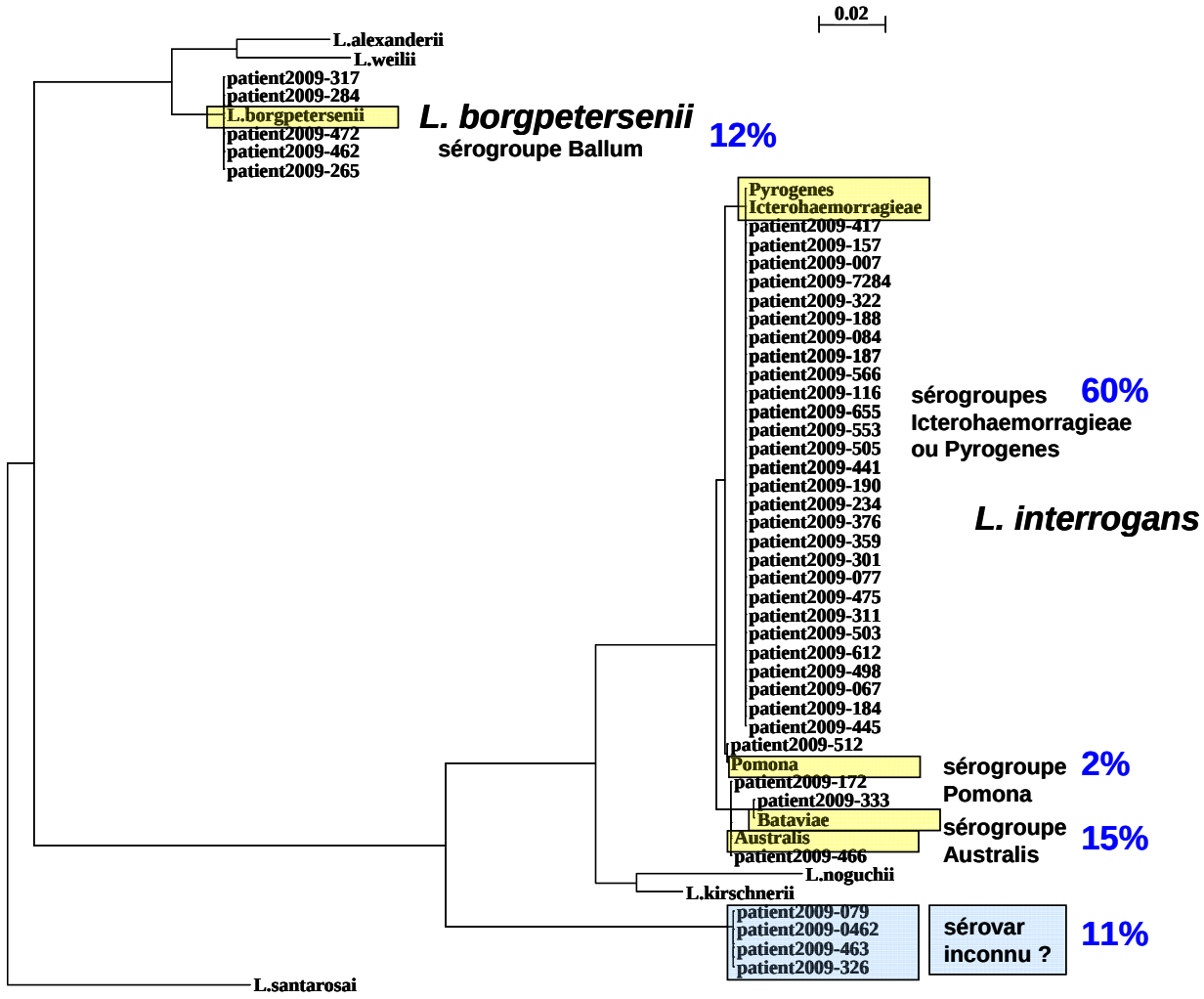


Figure 6 : Phylogénie des leptospires impliqués dans les cas humains de 2009 (résultats issus du séquençage du produit de PCR diagnostique *lfb1*).

3.4 ÉPIDEMIE DE FUTUNA - EN COLLABORATION AVEC LE DR J.F. YVON BIOLOGISTE A WALLIS

Pour la 6ème année consécutive, l'Ile de Futuna (archipel de Wallis & Futuna) a connu une épidémie saisonnière forte de leptospirose. Cent dix demandes ont été adressées à l'IPNC pendant l'année 2009. Parmi ceux-ci, 51 cas ont pu être biologiquement confirmés. Les sérogroupes identifiés se répartissent comme indiqué dans le tableau ci-après. Comme au cours des années précédentes, la très forte dominance de 2 sérogroupes est confirmée.

Sérogroupe présomptif (MAT)	Nombre	%
Australis	7	13,7%
Icterohaemorrhagiae	27	53%
Indéterminé (Coagg. ou PCR seule)	17	33,3%
Total	**51**	**100%**

Conclusion

L'année 2009 a été à nouveau marquée par un contexte météorologique particulier avec le phénomène « La Ninã » qui est probablement à l'origine d'une flambée épidémique de leptospirose en Nouvelle-Calédonie durant le premier semestre, une situation très similaire à l'année 2008. Plus encore qu'en 2008, le laboratoire en charge du diagnostic de la leptospirose a dû faire face à une très forte augmentation du nombre d'analyses. A nouveau, près de la moitié des cas positifs (43%) ont été diagnostiqués par PCR, y compris plus d'un tiers (34%) par la PCR seule, démontrant à nouveau que cette technique est désormais un outil incontournable pour les médecins du territoire, dont les patients consultent de plus en plus précocement. La rapidité du diagnostic de la leptospirose réalisé par l'IPNC contribue probablement à la bonne prise en charge des patients atteints de leptospirose, et de ce fait, à une mortalité relativement faible liée à cette maladie, en comparaison d'autres pays.

Dans le même temps, l'activité régionale s'est maintenue, principalement dans le cadre du suivi des flambées épidémiques sur l'île de Futuna.

Les travaux de recherche menés en parallèle apportent de premiers résultats sur le portage de Leptospires pathogènes chez des espèces de Mammifères (dont les rongeurs), et sur leur possible rôle dans l'endémicité de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie (voir chapitre sur les activités de recherche). Des outils de caractérisation moléculaire des souches circulant en Nouvelle-Calédonie sont également développés, qui contribueront à améliorer la surveillance épidémiologique de cette maladie importante.

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

Responsable :
- Aurélie Guigon (jusqu'au 15 juin 2009)
- Ann-Claire Gourinat (à partir du 16 juin 2009)

Partenariat et collaborations :
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- CHT Gaston Bourret
- 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 Paris
- Chef de Laboratoire de l'hôpital de Wallis

Centre de Référence :
- CCOMS Grippe, Melbourne, Australie

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 mars et avril 2009, plus de 2200 cas de grippe humaine ont été répertoriés au Mexique et aux États-Unis, responsables de 19 morts. Devant l'extension importante de l'épidémie, l'OMS a rapidement mis en évidence un virus grippal nouveau, de type A, de sous-type H1N1, d'origine porcine. Alors que de nombreux pays se préparaient depuis plusieurs années à l'éventualité d'une pandémie grippale H5N1, l'apparition et l'extension du virus A/H1N1 d'origine porcine, A(H1N1)swl, a démontré une fois de plus l'extrême facilité du virus grippal à s'adapter à l'homme et aux animaux, à générer des épidémies de grande ampleur, à muter, à développer des phénomènes de résistance et surtout à arriver là où on ne l'attend pas.

La Nouvelle-Calédonie participe activement à la surveillance de la grippe à travers son Réseau Sentinelle. 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).

1. CONTEXTE DE LA GRIPPE EN 2009

Face à la mise en évidence de ce nouveau virus grippal au potentiel épidémique important, l'IPNC a su très rapidement mettre en place tous les moyens nécessaires au diagnostic de la grippe A(H1N1)2009, grâce à l'expertise technique et scientifique de son personnel. De nouvelles techniques de biologie moléculaire issues du CDC d'Atlanta, puis du CNR grippe à l'Institut Pasteur à Paris, ont été transférées dès la mi-mai et en août respectivement. Pour faire face aux demandes croissantes de diagnostic, l'IPNC a réorganisé l'ensemble des activités de laboratoire pour libérer du personnel qualifié. Cette rapidité d'action n'aurait pas pu être envisageable sans matériel hautement spécialisé, sans locaux adaptés et sans une forte implication de l'ensemble du personnel. La réactivité technique et scientifique de l'IPNC a été doublée d'une réactivité financière. En effet, pendant l'épidémie, l'IPNC a dû faire face immédiatement à une augmentation vertigineuse des dépenses en fonctionnement (réactifs/consommables). Ces dépenses liées à l'épidémie ont été remboursées par le Gouvernement dès la fin de l'année 2009.

Grâce à une prise en main efficace de la crise par le Gouvernement, une bonne coopération entre les différents acteurs de la santé, la Nouvelle-Calédonie a été probablement le territoire parmi les mieux préparés à la surveillance de la pandémie dans le Pacifique.

2. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE

2.1 PARAMETRES DIAGNOSTIQUES AVANT LE DEBUT DE LA PANDEMIE

Avant le début de la pandémie swH1N1, le diagnostic de laboratoire reposait essentiellement sur la mise en évidence du virus grippal par immunofluorescence directe (spécificité A ou B), avec une technique de confirmation par PCR essentiellement sur sécrétions nasales ou pharyngées.

Le laboratoire disposait au début de l'année 2009 de 3 types de PCR :
- Grippe A : - sous-typage H1 et H3 (PCR « maison » d'après Stone, 2004)[1]
  - sous-typage H5N1 (kit commercial Biomérieux Nuclisens EasyQ Influenza H5 &N1)
- Grippe A (PCR « maison » d'après Smith, 2003)[2]

La publication rapide des séquences du nouveau virus grippal dans les débuts de la pandémie nous ont permis de nous assurer que la RT-PCR utilisée permettrait sa détection dans la majorité des cas, en attendant la mise au point de RT-PCR spécifiques.

2.2 PARAMETRES DIAGNOSTIQUES PENDANT LA PANDEMIE A(H1N1) 2009

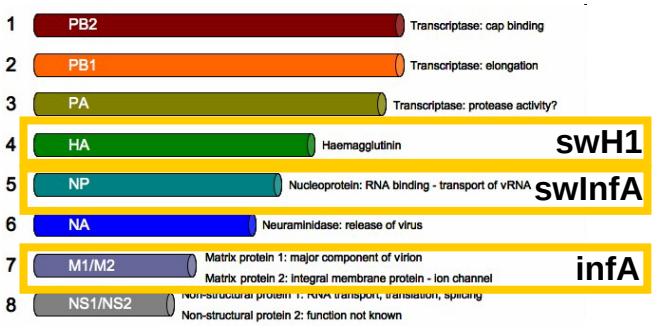
L'émergence de ce nouveau virus grippal a contraint dans un premier temps le laboratoire et les autorités sanitaires à manipuler des prélèvements suspects avec un maximum de précautions dans le but de protéger le personnel médical et technique, et d'éviter toute propagation du virus. Ces précautions faisaient suite à la forte mortalité liée à ce virus dont avait fait état le Mexique lors de l'annonce du début de la pandémie.

Dès le mois de mai, les prélèvements suspects étaient pris en charge de la même manière qu'un prélèvement suspect de grippe aviaire. Les protocoles grippe aviaire ont été appliqués à ce nouvel agent infectieux grippal. Une fois transmis au laboratoire de virologie dans les Bio-Bottle norme UN3375, les prélèvements étaient manipulés en laboratoire de type P2 dédié pour l'occasion à la grippe uniquement par 2 techniciens. Après une 1ère étape de lyse virale, destinée à l'inactivation du virus par des agents chimiques, l'extraction du génome viral était poursuivie ensuite sur l'automate d'extraction Easy Mag Biomérieux.

A partir du 18 mai 2009, la RT-PCR grippe A/H1N1 sur LC 480 ROCHE était opérationnelle au laboratoire de virologie. En tant que laboratoire collaborateur grippe pour l'OMS, nous avons bénéficié de l'aide très rapide du CDC d'Atlanta pour le protocole et la fourniture des premières amorces et sondes.

4 réactions RT-PCR ont été mises en œuvre pour chaque prélèvement :

- Une RT-PCR InfA ciblant le fragment 7 (protéines de matrice) du génome grippal : Grippe A ;
- Une RT-PCR swInfA ciblant le fragment 5 (nucléoprotéine) du génome grippal : grippe porcine universelle ;
- Une RT-PCR swH1 ciblant le fragment 4 (hémagglutinine) du génome grippal : grippe porcine pandémique ;
- Une RT-PCR ciblant le gène RP : RNaseP humaine (contrôle interne de cellularité).



Génome du virus grippal : cibles moléculaires lors de la RT-PCR (gène swH1, sw InfA et infA)

Chaque série de RT-PCR nécessite l'ajout de 4 contrôles (1 témoin positif, 2 témoins négatifs en grippe et 1 témoin H_2O), ceci quel que soit le nombre d'échantillons à traiter, d'où l'intérêt économique de regrouper les échantillons dans une même série (1 série : maximum 21 patients).

A partir du 14 août 2009, la RT-PCR du CDC a été remplacée par le protocole du CNR grippe (Institut Pasteur). Cette PCR se distingue de la précédente par l'amplification de 2 régions du virus grippal : gène M sur le fragment 7 (grippe A universelle) et gène H1swl de l'hémagglutinine sur le fragment 4 (RT-PCR spécifique de la grippe pandémique A/H1N1. La GAPDH est utilisée comme contrôle interne. La mise en place de ce protocole a permis de porter à 29 le nombre de patients que l'on peut tester dans chaque série.

2.3 PARAMETRES DIAGNOSTIQUES APRES LA PANDEMIE

A partir du mois de septembre 2009, la détection de la grippe B par RT-PCR a été transférée sur LC 480, permettant ainsi la détection simultanée des 2 types viraux en une seule technique. Cette adaptation de la RT-PCR Grippe B permet donc une détection plus aisée et plus rapide des co-circulations grippales.

De plus, à partir de novembre 2009, sur les recommandations du CNR grippe, le jeu des sondes et amorces spécifiques du H1v, ciblant l'hémagglutinine, est remplacé par un autre jeu de sondes situé dans la zone d'amorçage du gène N1 (Neuraminidase sur le fragment 6) du virus A(H1N1)swl 2009. Cette région étant beaucoup moins sujette aux mutations du virus, ce changement a permis d'augmenter la sensibilité de la technique.

La RT-PCR grippe est réalisée en première intention pour toute demande de diagnostic spécifique de grippe du CHT et pour toutes les demandes provenant du réseau sentinelle grippe (modifié en octobre 2009). Au vu des mauvais résultats obtenus par la recherche directe du virus grippal par immunofluorescence (IF), celle-ci a été abandonnée (cf. paragraphe 4).

2.4 EVALUATION DE LA SENSIBILITE DE L'IF PENDANT LA PANDEMIE A/H1N1

Pendant la pandémie de grippe A(H1N1)2009, la recherche du virus grippal par IF et par RT-PCR a été réalisée sur des prélèvements venant du service de pédiatrie du CHT et des prélèvements réalisés par les médecins du réseau sentinelle. Ces deux techniques ont été réalisées en parallèle. La sensibilité de l'IF par rapport à la RT-PCR est évaluée à 60% avec une spécificité de 100% à partir de prélèvements recueillis par aspiration nasopharyngée (N= 25). Lorsque l'IF est réalisée à partir d'écouvillons secs ayant servis à recueillir des sécrétions nasales, la sensibilité chute à 43% (N= 125) avec une spécificité toujours à 100%.

Ces résultats peuvent être expliqués par le délai entre le prélèvement et la réalisation de l'IF (suractivité du laboratoire pendant cette période) qui pouvait parfois atteindre plus de 24h. D'autre part, les prélèvements nasaux étaient effectués par un personnel parfois mal préparé pour effectuer ce type de prélèvement.

Ces résultats montrent que la qualité du prélèvement est un facteur conditionnant la sensibilité de l'IF. L'utilisation de la RT-PCR permet de se détacher ainsi de certaines contraintes, comme le site du prélèvement, la rapidité de prise en charge de l'examen, et de la charge virale initiale du patient. L'exclusion des écouvillons en bois pour les prélèvements, responsables d'inhibition des réactions de PCR a toutefois été rappelée.

3. ACTIVITES POUR L'ANNEE 2009

3.1 RESULTATS GLOBAUX

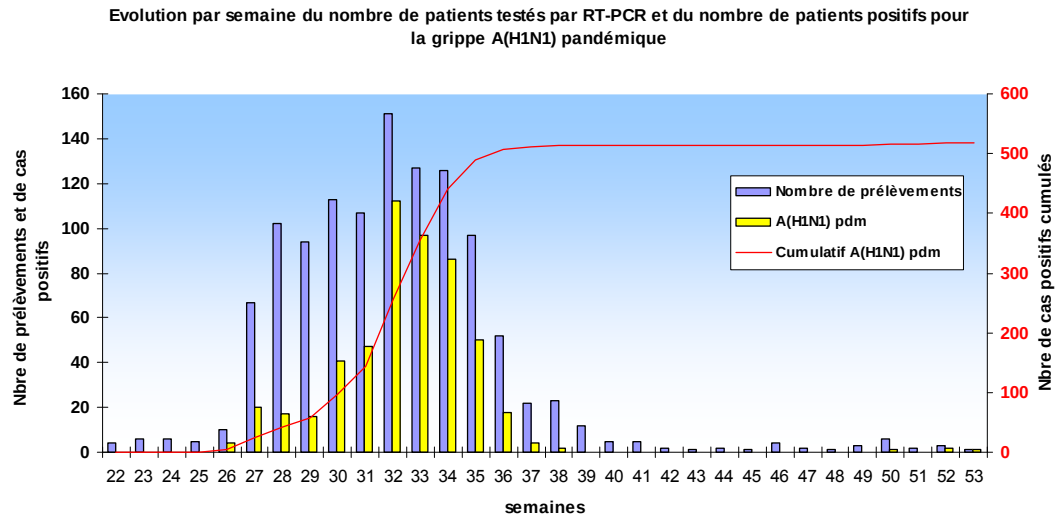
3.1.1 Activité et nombre de cas

Au total en 2009, 1162 prélèvements ont été traités par RT-PCR : 518 (44,5%) sont positifs pour la grippe A pandémique (H1N1)swl, 25 (2,1%) pour la grippe A saisonnière et aucun n'est positif en grippe B.

3.1.2 Dynamique de l'épidémie

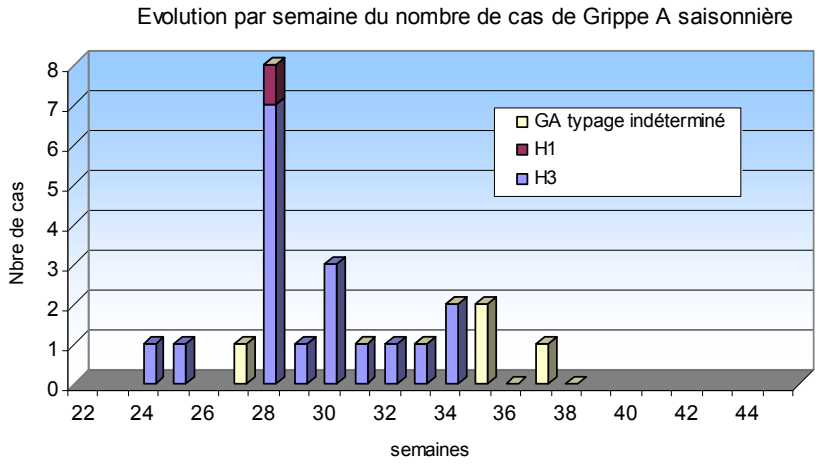
Le premier cas confirmé de grippe A(H1N1)swl 2009 en Nouvelle-Calédonie a été diagnostiqué le 26 juin 2009, en provenance d'Australie. Il a été détecté par la caméra thermique installée à l'aéroport international de Tontouta. En juillet, les échanges scolaires avec l'Australie et la Nouvelle-Zélande où la circulation communautaire était à son maximum, et les retours de vacances scolaires, ont favorisé l'instauration d'une circulation locale du virus en Nouvelle-Calédonie. Le premier cas sans lien documenté avec un cas importé a été rapporté en semaine 29, signalant le début d'une circulation communautaire du virus. Le pic épidémique est survenu en semaine 32 avec un pourcentage de positivité de 74%.

Entre le 26 juin et le 19 septembre (dernier cas positif local), 1085 prélèvements ont été analysés dont 46.8% ont été positifs en RT-PCR.



La diminution de nombre de cas a ensuite été très rapide et le dernier cas de la vague épidémique a été mis en évidence en semaine 38.

En décembre 2009, 4 prélèvements issus du réseau sentinelle ont eu un résultat positif, tous directement liés à l'épidémie qui se manifestait en France (retour de voyage ou contact direct récent avec un voyageur).



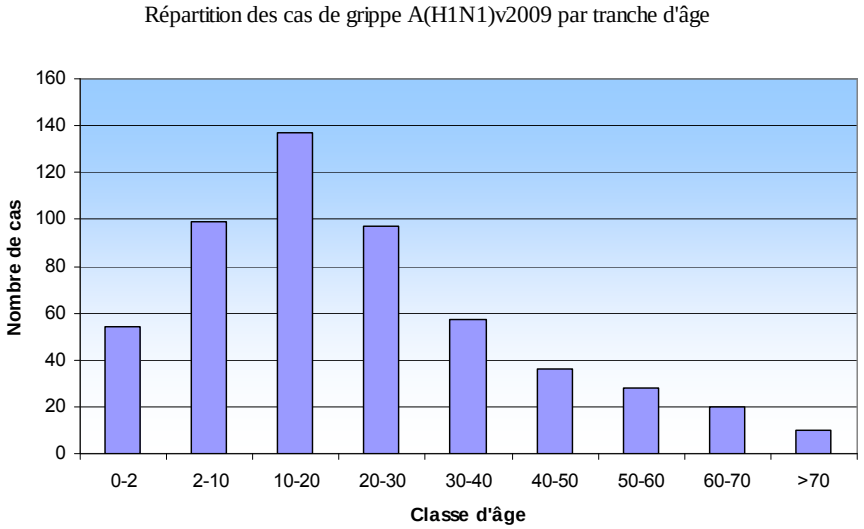
La présence de virus grippaux saisonniers de type A(H3N2) a été mise en évidence avant les premiers cas de grippe A(H1N1)swl au début du mois de juin par le système de surveillance développé en Nouvelle-Calédonie. Un seul cas de grippe A(H1N1) saisonnier a été observé chez une voyageuse rentrant du Vanuatu. Très rapidement le virus pandémique est devenu prépondérant par rapport aux virus saisonniers circulants. On note un discret pic lié au virus grippal A(H3N2) en semaine 28, qui précède le pic du au virus pandémique en semaine 32. Au total on comptabilise moins de cas de grippe liés aux virus grippaux saisonniers de type A (25) qu'en 2008 (44 cas). Aucun cas de grippe B n'a été détecté en 2009.

Certaines souches de virus pandémique ont dans de rares cas été identifiées comme des virus de grippe A saisonnière non typables, sans doute en raison d'un léger manque de spécificité des amorces et sondes H1swl. Ces souches ont par la suite été identifiées comme des virus pandémiques par la nouvelle sonde N1 variante plus sensible fournie par le CNR grippe. Des défauts de détection similaires ont été rapportés par d'autres laboratoires que ce soit avec la technique du CDC ou celle du CNR (H1Swl).

3.2 DONNEES CONCERNANT LES CAS POSITIFS DE GRIPPE

3.2.1 Age et sexe des malades

Le sex ratio M/F est de 1,12. La répartition des malades par tranche d'âge se présente de la façon suivante :



Les enfants et adolescents ont été particulièrement atteints par le virus. Les moins de 20 ans représentent 54% des cas de grippe A(H1N1)v. A l'inverse, les plus de 60 ans ont été relativement épargnés pendant cette épidémie, 5.6% des cas confirmés biologiquement. L'hypothèse de la présence d'anticorps protecteurs croisés chez les sujets âgés a été avancée.

3.2.2 Décès et facteurs de risques

Le nombre de décès rapportés par la DASS-NC est de 10 (7 adultes et 3 enfants) dont 7 confirmés biologiquement par RT-PCR par l'IPNC et par le CCOMS grippe de Melbourne. Deux personnes décédées ne présentaient aucun facteur de risque connu.

Au total, 21 patients confirmés biologiquement ont été hospitalisés en réanimation ou en unité de soins intensifs.

Parmi ces patients, les co-morbidités et les facteurs de risques étaient nombreux (obésité, pathologie respiratoire chronique, diabète, insuffisance rénale, cardiopathie).

Parmi les enfants hospitalisés, l'âge <1 an constituait un facteur de risque majeur, suivi par les pathologies respiratoires, neuromusculaires, immunodéficitaires et cardiaques. L'origine ethnique pourrait également jouer un rôle, 74% des enfants étaient d'origine mélanésienne versus 44% dans la population générale *(source DASS-NC 2009)*

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

Nous avons transmis 37 souches au CCOMS grippe de Melbourne, pour la culture en vue du typage et des tests de résistance aux antiviraux. Il s'agissait majoritairement de souches difficilement typables (signal très faible en H1 pandémique), de souches de grippe A saisonnière pour lesquels aucun sous-type n'avait pu être identifié et de souches de patients décédés. La culture a été négative pour plusieurs prélèvements (congélations et décongélations successives) malgré leur positivité en RT-PCR.

Parmi les souches analysées, toutes les souches A(H1N1)swl pandémiques ont été apparentées à la souche **A/California/7/2009,** les virus grippaux saisonniers A(H3N2) au virus **A/Brisbane/10/2007** et le seul virus A(H1N1) saisonnier au virus **A/Brisbane/59/2007.**

L'étude de la résistance aux inhibiteurs de la neuraminidase, notamment chez 4 patients décédés en réanimation, n'a décelé aucune résistance à l'Oseltamivir (Tamiflu®) et ni au Zanamivir (Relenza®).

4. RESEAU SENTINELLE ET CENTRE DE TRAITEMENT GRIPPE EN 2009

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 (Tamiflu® par exemple) susceptibles d'être utilisés en cas de pandémie grippale.

Avec l'alerte de pandémie grippale déclenchée par l'OMS en avril 2009, le réseau sentinelle a subi à plusieurs reprises des modifications. Dès fin avril, les autorités sanitaires ont mis en place une cellule opérationnelle de crise santé, dont le rôle était de mettre en place des mesures de surveillance au niveau de l'aéroport international, puis dans un deuxième temps des mesures permettant de lutter contre la propagation du virus grippal pandémique via les CTG (centre de traitement de la grippe). L'ouverture de 2 CTG situés à Nouméa a mis momentanément le réseau sentinelle du grand Nouméa en stand-by. A l'inverse, de nombreux dispensaires (nord et îles Loyautés) ainsi que le CHN ont pu participer à la surveillance et au diagnostic de la grippe de juillet à septembre 2009.

Depuis la fin septembre 2009 (fin de l'épidémie due au virus A(H1N1)swl, la DASS-NC en collaboration avec l'IPNC a revu l'organisation du réseau sentinelle grippe. Les sites ainsi que les médecins souhaitant participer à l'animation de ce réseau ont été modifiés.

Les prélèvements respiratoires sont transmis à l'IPNC et le nombre des consultations des syndromes pseudo-grippaux transmis à la DASS-NC.

Pour une question économique, les RT-PCR grippe (A, B, et A(H1N1)swl sont regroupés pour être réalisés une fois par semaine. En parallèle, la recherche d'autres virus respiratoires (ADV, P3, VRS) est réalisée par immunofluorescence. Les résultats et les fiches de renseignements sont transmis à la DASS-NC de façon hebdomadaire.

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 2009 ont proposé les formulations suivantes pour les vaccins :

- Pour l'hémisphère Nord (WHO-Weekly Epidemiological Record, Vol. 84, 9, 2009, 65–76)
  – un virus de type A/Brisbane/59/2007 (H1N1)
  – un virus de type A/Brisbane/10/2007 (H3N2)
  – un virus de type B/Brisbane/60/2008.

- Pour l'hémisphère Sud (WHO-Weekly Epidemiological Record, Vol. 84, 41, 2009, 421–436)
  – 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

Des recommandations sur la présentation des vaccins (virus contenus dans un seul vaccin ou dans des vaccins séparés pour la grippe pandémique A(H1N1)2009 et pour la grippe saisonnière), seront émises ultérieurement.

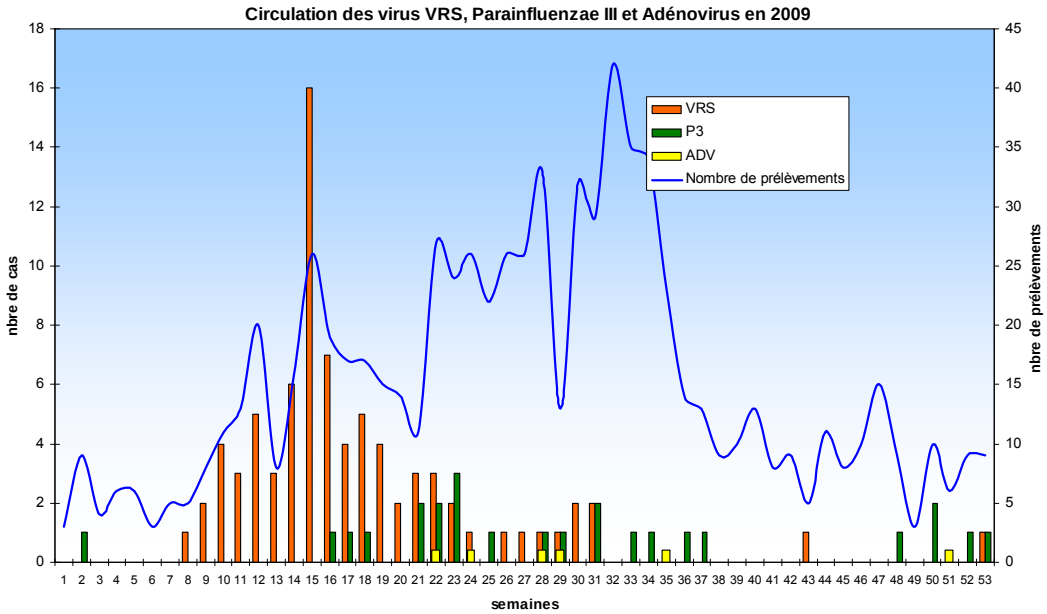
6. RECOMMANDATIONS LOCALES

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. La vaccination contre le virus A(H1N1) pandémique a été conseillée à partir de novembre et décembre 2009 aux professionnels de santé ainsi qu'aux personnes se rendant dans l'hémisphère nord pendant l'hiver et aux patients présentant certains facteurs de risque.

7. AUTRES VIRUS A TROPISME RESPIRATOIRE

Les demandes de recherche de virus respiratoires : Adénovirus (ADV), Virus Respiratoire Syncitial (VRS) et Virus *Parainfluenzae* de type 3 (P3), proviennent des services du CHT (pédiatrie en majorité) et du réseau sentinelle grippe.
La mise en évidence de ces virus se fait par immunofluorescence indirecte (Mono Fluo Kit Biorad®).



Comme chaque année, on a observé en 2009 un pic de circulation du VRS durant la fin du premier trimestre (pic en semaines 14, 15 et 16). Cependant, une nette augmentation des cas a été notée en 2009 (81 cas versus 35 en 2008). L'essentiel des patients sont des enfants < 1 an, hospitalisés pour une bronchiolite.

Une circulation plus discrète du virus *Parainfluenzae* III a également été mise en évidence durant les semaines 21 à 23. La circulation de l'adénovirus a été plus sporadique en 2009.

8. FORMATION DU PERSONNEL DE LABORATOIRE, LABORATOIRE P2+

Seules 2 techniciennes étaient formées au diagnostic moléculaire de la grippe et grippe aviaire. Dès la première alerte par l'OMS du risque de pandémie par le virus « porcin » A(H1N1), à l'époque considéré comme agent infectieux hautement pathogène, l'IPNC a formé 5 fois plus de personnel (techniciens, ingénieurs et chercheurs), réorganisé ses locaux et institué un système d'astreinte pendant le week-end. Il a été en mesure dès la mi-mai 2009 de prendre en charge des prélèvements pour le diagnostic de la grippe A (H1N1).

L'IPNC avait obtenu en 2008 un budget de la CPS (PRIPP) pour la formation de 2 techniciennes à l'Institut Pasteur du Cambodge (travail en laboratoire de biosécurité niveau P3 et diagnostic de grippe aviaire). Les épidémies de dengue, puis de grippe ont retardé cette formation. La première technicienne n'a été formée qu'en octobre 2009 et la seconde technicienne le sera en mars 2010.

Enfin, la construction d'un laboratoire de biosécurité niveau P2+ tant attendue n'aura lieu qu'en 2010 (financement par le Gouvernement et l'IPNC). Un laboratoire de niveau P3 sera disponible en 2015 dans le médipôle, il permettra enfin 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 2009 à participer aux contrôles de qualité de l'OMS pour la grippe aviaire (envoi semestriel). Les résultats ont été très satisfaisants. Toutes les souches A(H5N1), A saisonnier et A(H1N1)swl 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.

En juillet 2009, l'IPNC a confirmé les premiers cas de grippe A(H1N1)swl pandémique à Wallis et Futuna. Au total 81 échantillons ont été envoyés à l'IPNC et 36 patients étaient positifs pour la grippe A(H1N1)swl.

Conclusions

La surveillance de la grippe en Nouvelle-Calédonie en 2009 a été marquée par la pandémie due au virus A(H1N1)swl qui a touché le pays pendant l'hiver austral.

L'IPNC a parfaitement assuré son rôle de laboratoire de référence et de partenaire auprès de la DASS-NC, pendant cette pandémie. Le laboratoire de virologie a été particulièrement sollicité pendant cette épidémie, car la RT-PCR était le seul outil permettant de confirmer un diagnostic de grippe A(H1N1)swl. L'IPNC a pu faire bénéficier de son savoir-faire à ses proches voisins.

A l'instar des grands laboratoires métropolitains, une trentaine d'échantillons ont pu être pris en charge chaque jour à l'IPNC. Au total, 1162 échantillons (44,5% positifs) ont été analysés en 2 mois.

La DASS-NC estime le taux d'attaque de la grippe à 16-18 %, ce qui représenterait près de 40 000 personnes contaminées par ce virus pandémique en Nouvelle-Calédonie. La symptomatologie de cette grippe était marquée par une variabilité interindividuelle importante. Le diagnostic clinique était parfois difficile pour les médecins, car les formes cliniques allaient du simple catarrhe fébrile jusqu'au syndrome de détresse respiratoire aiguë hospitalisé en réanimation. La proportion de formes asymptomatiques est quant à elle difficile à évaluer, mais paraît non négligeable et a sûrement contribué à la diffusion du virus.

Cette épidémie a montré les points forts et les points faibles de notre système de surveillance. Nous devons en tirer des leçons pour conserver notre performance face à une prochaine pandémie grippale dont le potentiel pathogène pourrait être bien plus élevé que celui du virus A(H1N1)2009.

SURVEILLANCE DU VIH EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable :
- Aurélie GUIGON (jusqu'au 15 juin 2009)
- Ann-Claire GOURINAT (à partir du 16 juin 2009)

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

Introduction

Environ 150 patients disposent aujourd'hui en Nouvelle-Calédonie d'une prise en charge au titre de l'infection par le VIH, et ce nombre s'accroît annuellement. Ainsi en 2009, 13 nouveaux patients ont été diagnostiqués ou déclarés à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie. La forte prévalence sur le territoire des autres infections sexuellement transmissibles comme la syphilis ou les infections à *Chlamydiae trachomatis* témoigne des difficultés rencontrées dans la mise en place des mesures de prévention de la transmission sexuelle du VIH. De ce fait, bien que l'incidence du VIH soit plus faible en Nouvelle-Calédonie qu'en métropole, il est impératif de renforcer la surveillance et la prévention de cette maladie.

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 au clinicien dans la prise en charge de son patient.

L'IPNC est le laboratoire de référence pour le suivi des patients séropositifs en Nouvelle-Calédonie.

1. ACTIVITES DE DEPISTAGE ET DE SUIVI DES MALADES

Au total 4119 dépistages ont été demandés dont 1516 sont anonymes. Quatre nouvelles infections à VIH ont été détectées en Nouvelle-Calédonie. Dans le même temps, 9 patients connaissant préalablement leur séropositivité, sont arrivés sur le territoire.

La numération des lymphocytes CD4 (435 demandes) se fait par cytométrie de flux après double marquage CD4/CD3 ou CD8/CD3 sur automate Facscount® (Becton Dickinson™).

La mesure de la charge virale est réalisée par PCR temps réel, méthode NASBA (Nuclisens Easy-Q HIV1, Biomérieux), permettant un seuil de détection à 25-50 copies d'ARN viral/ ml de sang.

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 en PCR. La répartition des résultats des charges virales sur 329 prescriptions est la suivante :

Charge virale	Copies/ml	Pourcentage des examens
indétectable	< 50	242
très faible	Entre 50 et 500	29
Faible	Entre 500 et 10^4	36
Moyennement élevée	Entre 10^4 et 10^5	18
élevée	$>10^5$	4

2. 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 et de l'ADN proviral du HIV. Depuis 2008, un nouvel examen est à la disponibilité des cliniciens : le dépistage du HLA B5701.

2.1 GENOTYPAGES 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 ayant été 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 Pasteur Cerba (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 associées à un phénotype de résistance est ensuite effectuée par comparaison avec une banque de données actualisée (algorithmes ANRS). Sur les 17 patients suivis 10 ont des inhibiteurs de la transcriptase inversée et 11 des anti-protéases.

2.2 DEPISTAGE DU HLA B5701 ET DETECTION DE L'ADN PROVIRAL

Ce nouveau 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 Pasteur Cerba (7 demandes en 2009).

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 notamment 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 Pasteur Cerba.

3. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

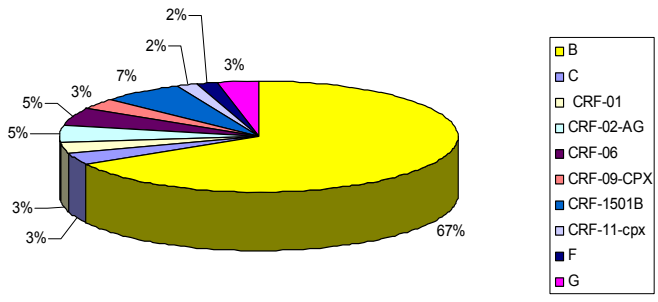
3.1 FILE HIV AU 31/12/2009

Le cumul des cas des patients déclarés séropositifs, enregistrés à l'Institut Pasteur est de 330, dont 183 (55.4%) dépistés localement et 147 connaissant leur statut avant leur arrivée en Nouvelle-Calédonie. Parmi ces patients, on compte 83 femmes, 241 hommes et 6 de sexe non précisé. Parmi les patients, on compte 5 enfants contaminés à la naissance (dont 3 dépistés localement).

3.2 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, 317 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 50 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 31/12/2009)



Conclusion

Le nombre de patients diagnostiqués ou déclarés à l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie en 2009 reste globalement stable par rapport aux années précédentes. Il ne faut cependant pas relâcher cette surveillance en raison de la forte prévalence des infections sexuellement transmissibles sur le territoire. Ceci pourrait être révélateur d'un impact limité des actions de prévention contre la transmission sexuelle du VIH, actions qu'il faudrait probablement renforcer dans les années futures.

SURVEILLANCE DE LA DENGUE EN NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable :
- Aurélie GUIGON (jusqu'au 15 juin 2009)
- Ann-Claire GOURINAT (à partir du 16 juin 2009)

Collaborateur IPNC :
- Laurent GUILLAUMOT, responsable laboratoire entomologie

Partenariat :
- DASS de Nouvelle-Calédonie
- CHT, organismes de lutte anti-vectorielle (SIPRES)
- Réseau de surveillance sentinelle dengue
- Secrétariat de la Communauté du Pacifique

Introduction

La dengue est une arbovirose humaine due à un virus de la famille des Togaviridae et du genre Flavivirus. Quatre sérotypes de virus (DEN-1, DEN-2, DEN-3 et DEN-4) sont actuellement connus. Le principal vecteur de la dengue est un *Culicidae* (moustique) *Aedes aegypti.* La dengue, endémique dans le Pacifique, s'y manifeste périodiquement sous forme épidémique.

L'année 2009 a été marquée par une épidémie de dengue de grande ampleur impliquant le sérotype 4 dont l'introduction sur le territoire avait été mise en évidence fin 2008. La dernière épidémie due au sérotype 4 en Nouvelle-Calédonie remonte à 1979. Depuis, ce sérotype a été isolé à plusieurs reprises chez des voyageurs sans donner lieu à une épidémie.

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 son diagnostic. Le laboratoire de virologie a été fortement impliqué dans le diagnostic biologique de la dengue, mettant tout en œuvre pour confirmer biologiquement l'ensemble des patients suspects de dengue.

1. LE RESEAU SENTINELLE DE L'ANNEE 2009

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 le gouvernement via la DASS). Cette initiative s'est prolongée tout au long de l'année 2009. Cela a donc permis de dépister un maximum de patients, permettant de cibler les épandages en priorité autour des cas confirmés biologiquement grâce aux renseignements recueillis à partir des fiches du réseau sentinelle dengue. La gratuité des examens était soumise à la présence de la fiche du réseau sentinelle dûment remplie par le prescripteur.

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 versée 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 de Nouvelle-Calédonie : 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

L'IPNC dispose actuellement d'un panel de tests permettant de porter un diagnostic de dengue à différents stades de la maladie. On distingue ainsi les tests précoces (PCR et Ag NS1 pouvant être positifs dès les premiers symptômes), et les tests tardifs mettant en évidence les IgM dont l'apparition nécessite environ une semaine, mais pouvant persister parfois au-delà de 2 mois. Cette combinaison de tests permet d'apporter un diagnostic dans la plupart des cas suspects de dengue.

Depuis la mise en place des tests Ag NS1, la PCR n'est plus utilisée comme technique de première ligne. Celle-ci reste néanmoins systématiquement réalisée chez les patients prélevés très précocement (J+1 à compter du début des signes cliniques), ou cliniquement fortement suspects de dengue en cas de négativité du test NS1, ainsi que chez les patients présentant un test NS1 douteux. D'autre part, cette technique est régulièrement mise en œuvre devant toute suspicion de dengue chez un patient revenant d'un pays étranger, pour veiller au risque d'introduction d'un nouveau sérotype ainsi qu'en période épidémique pour la surveillance épidémiologique.

Pour la mise en évidence des IgM dengue, nous utilisons le test ELISA Panbio (Dengue IgM Capture Elisa Kit®), l'ELISA IgM Pentax (Anti-Dengue Virus IgM Detection PA Kit®) n'étant plus commercialisé depuis fin 2008. Quelques réactions croisées ont été notées avec d'autres maladies infectieuses (hépatite A, leptospirose, paludisme) ou avec des facteurs rhumatoïdes. Des kits ELISA IgM dengue plus spécifiques sont en cours d'expertise à l'IPNC.

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. Toute l'année, ce test a donc été réalisé quotidiennement, et un système d'astreinte a été mis en place pendant les week-ends prolongés ou les jours fériés pour les demandes urgentes en période d'épidémie.
En fonction des résultats de ce test et des renseignements cliniques, les tests de 2nde intention (IgM ou PCR) peuvent être mis en place.

3. RESULTATS GLOBAUX DU LABORATOIRE

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.

En plus de la Nouvelle-Calédonie, l'IPNC a été sollicité par Wallis & Futuna et le Vanuatu notamment pour le sérotypage. Le Vanuatu a subi, comme de nombreuses autres îles du Pacifique en 2009, une épidémie de dengue incriminant le sérotype 4. Les cas détectés à Wallis et Futuna correspondent à des cas d'importation du sérotype 4.

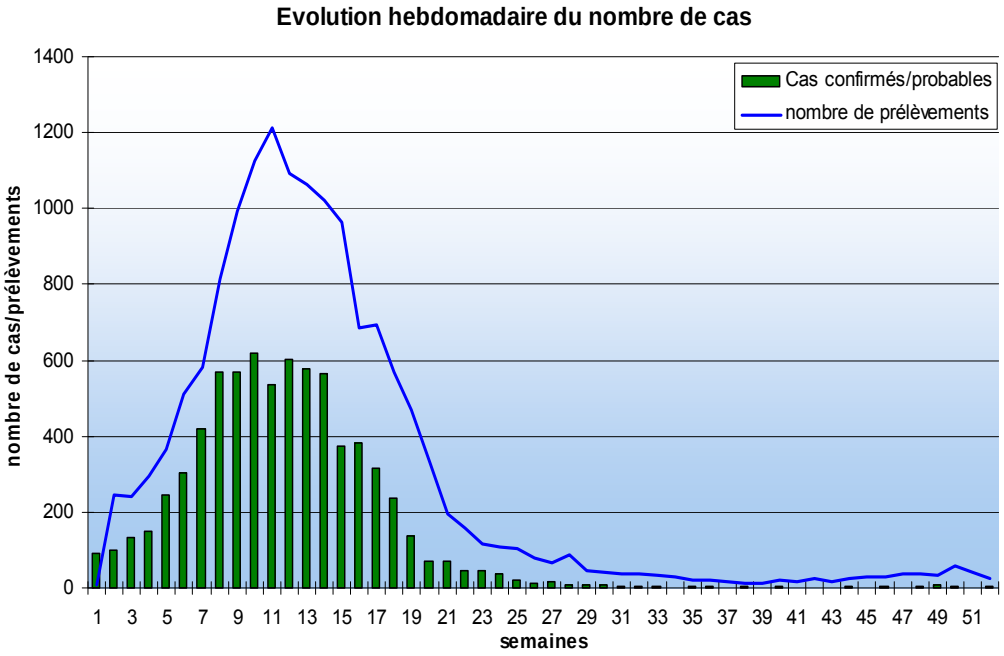
Au total, **7296 cas de dengue** ont été diagnostiqués au laboratoire pour l'année 2009, **dont 6328 confirmés et 968 probables**.

Origine	Nombre de Patients testés par le laboratoire				
	Total des demandes	**Cas de dengue**	**Cas possibles**	**Cas probables**	**Cas confirmés**
Nouvelle-Calédonie	14927	**7296**	0	968	6328
Vanuatu	4	**0**	0	3	0
Wallis et Futuna	13	**8**	0	1	7

3.1 CARACTERISTIQUES ET EVOLUTION DES CAS

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

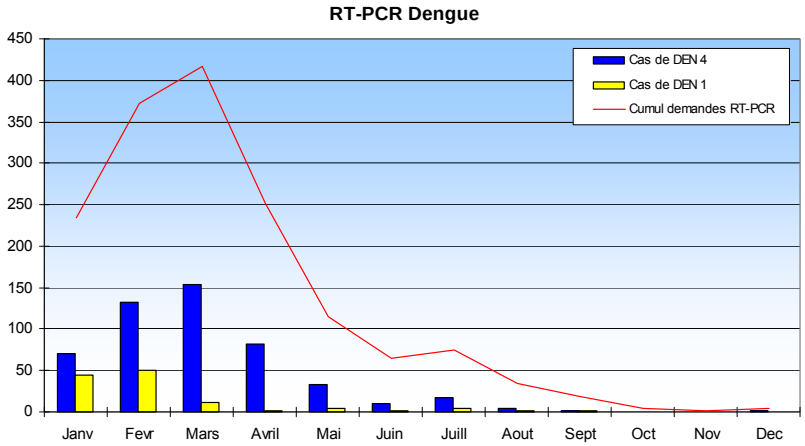
- il couvre une période assez large, allant parfois du début des signes cliniques à 10 jours après, ceci permettant de diagnostiquer une grande majorité des patients,
- il couvre en grande partie la période de virémie, d'où son intérêt pour l'efficacité des actions d'épandage,
- il est facilement réalisable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



L'année 2009 a été marquée par une augmentation significative du nombre de cas durant les mois de février à avril (période chaude et humide), en relation avec la circulation du sérotype DEN-4 ainsi qu'une co-circulation moindre du sérotype DEN-1.
Le taux de positivité des prélèvements a atteint son maximum entre les semaines 8 à 14 (55 % en moyenne).

3.2 ETUDE DES DIFFERENTS SEROTYPES CIRCULANTS PENDANT L'EPIDEMIE

Compte tenu de la très forte demande des examens biologiques de laboratoire, le sérotypage n'a pas pu être réalisé chez tous les patients. L'IPNC a systématiquement réalisé un sérotypage pour tous les cas d'importation. En ce qui concerne les cas locaux, le sérotypage a été réalisé sur tout nouveau foyer de dengue (à l'échelle des quartiers, districts ou communes) en début d'épidémie, puis de façon régulière dans les différentes communes du territoire pour assurer la surveillance virologique. Le virus DEN-1 a circulé de façon quasi exclusive probablement jusqu'à septembre-octobre 2008. A partir d'octobre 2008, date de la première mise en évidence du sérotype DEN-4 à Koné, les deux sérotypes ont co-circulé jusqu'à la fin de l'année. Compte tenu de la faible immunité de population contre le sérotype DEN-4, cette épidémie a rapidement diffusé dans la province nord, puis à Nouméa. L'absence de sérotypage systématique ne permet pas de déterminer les proportions respectives de chaque sérotype mais la persistance du type DEN-1 a été observée jusqu'en septembre 2009 alors qu'on s'attendait à son extinction progressive, la Nouvelle-Calédonie ayant déjà subi en 2003-2004 une épidémie de DEN-1 de grande ampleur.
L'épidémie due au type DEN-4 a démarré à Koné (tribu de Bako) en octobre 2008 et s'est étendue sur toute la Nouvelle-Calédonie, avec un pic au mois de mars 2009. La dernière épidémie due au sérotype DEN-4 remonte aux années 79-80. Tous les sujets âgés de moins de 30 ans et tous les arrivants depuis cette date n'avaient jamais rencontré ce virus.

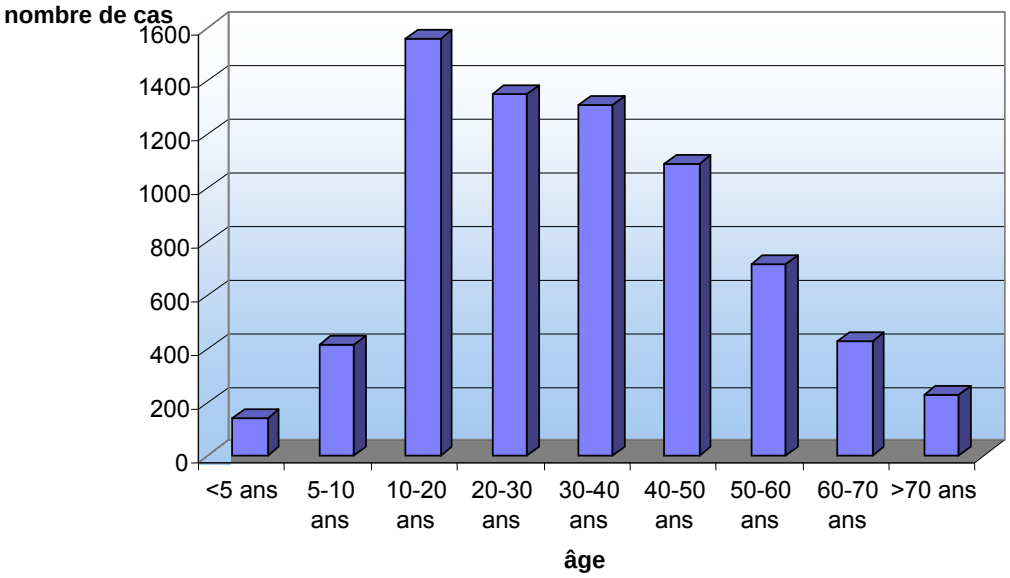


La co-circulation des sérotypes 1 et 4 est très claire, surtout en janvier et février, même si le sérotype 4 a été dominant. Cette double circulation a été à l'origine de 3 cas de co-infection DEN-4 et DEN1 (un cas en janvier et deux en mars).

3.3 REPARTITION GLOBALE DES CAS PAR AGE

Comme en 2008, la classe d'âge la plus touchée est celle des 10-20 ans.

Répartition des cas de dengue en fonction de l'âge



3.4 REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES CAS

Les cartes suivantes montrent la répartition des cas pour l'année 2009 sur le territoire et sur le grand Nouméa (figures 1 et 2) *(Données DASS-IPNC)*.

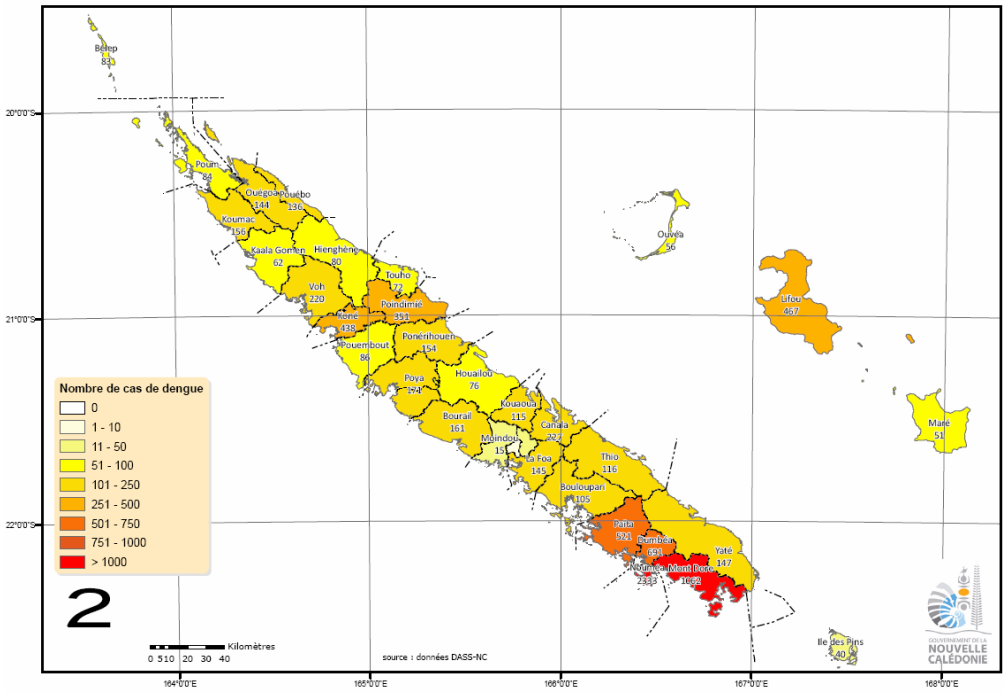


Figure 1 : Carte de répartition des cas de dengue en Nouvelle-Calédonie en 2009

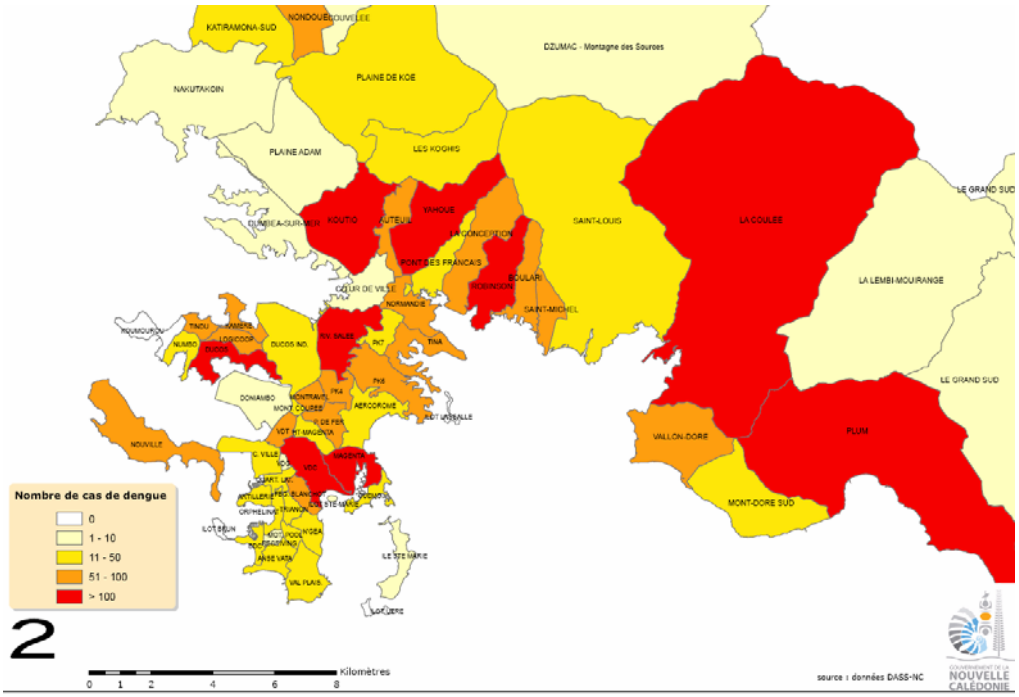


Figure 2 : Carte de répartition des cas de dengue dans le grand Nouméa en 2009

3.5 CAS D'IMPORTATION

L'IPNC a systématiquement réalisé un sérotypage pour tous les cas d'importation (13 cas). Ont été identifiés par PCR la DEN-2 (en provenance d'Indonésie et de l'Inde) et la DEN-4 (en provenance d'Indonésie, d'Australie, du Vanuatu, de la Thaïlande, de l'Argentine et de la Nouvelle-Zélande). 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. En 2009, les cas d'importation impliquant les sérotypes DEN-2 ont pu être contenus et n'ont pas entraîné d'épidémie, ce qui n'a pas été le cas du sérotype DEN-4 en 2008.

3.6 ANALYSE GENETIQUE DES SOUCHES CIRCULANTES

Ce travail a été réalisé en collaboration avec le WHO Collaborating Centre for arbovirus Reference and Research (Pr J. Aaskov) en Australie. Une sélection de prélèvements confirmés en dengue (DEN-1 ou DEN-4) ont été envoyés pour séquençage et comparaison avec les souches virales circulantes dans d'autres pays asiatiques ou du Pacifique. Cette analyse a montré que les souches calédoniennes DEN-1 2008-2009 sont assez proches de celles de Polynésie Française, tandis que celles de DEN-4 sont proches de celle du Vanuatu et d'autres îles du Pacifiques (Salomon, Fidji, Tonga, Samoa, Kiribati).

Conclusion

Deux épidémies de dengue, incriminant d'abord le sérotype 1 en 2008 puis le sérotype 4 en 2009, se sont succédé en Nouvelle-Calédonie. Les nouveaux tests basés sur la détection de l'antigène NS1 mis en place en 2007 ont permis un diagnostic précoce et rapide de la plupart des cas suspects de dengue. Cette rapidité dans le rendu des résultats a permis aux autorités sanitaires de continuer la stratégie de lutte adoptée en 2008 en ciblant les actions de démoustication autour des cas biologiquement confirmés, permettant par voie de conséquence une meilleure mobilisation des moyens humains et matériels. D'autre part, la possibilité technique de réaliser ces tests spécialisés à grande échelle ajoutée à l'existence de la subvention territoriale, ont permis un suivi épidémiologique de grande qualité.

La Nouvelle-Calédonie a donc connu, après 30 ans, une épidémie dans laquelle le sérotype 4 a été de nouveau impliqué. La stratégie de lutte adoptée en NC a sûrement permis d'éviter le pire, un seul décès lié au sérotype 1 a été déploré (versus 17 décès en 2003).

La persistance du sérotype DEN-1 pendant plus de 2 ans, avec des cas diagnostiqués même en saison fraîche, suggère qu'une situation endémo-épidémique est en train de s'installer sur le territoire.

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

Responsables :
- Laurent GUILLAUMOT, entomologiste

Aide technicien :
- Sosiasi KILAMA, aide technicien entomologiste

Collaborateurs IPNC :
- Laboratoire de Sérologie-Virologie

Partenaires locaux :
- la DASS de Nouvelle-Calédonie
- les services de santé des Provinces
- les services communaux concernés

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

Introduction

Du fait des maladies qu'ils transmettent, les moustiques vecteurs sont responsables chaque année de millions de décès dans le monde et d'une morbidité considérable, principalement dans les pays tropicaux. Relativement épargnée, la Nouvelle-Calédonie n'est affectée que par une seule maladie à transmission vectorielle, la dengue, et un seul vecteur est présent : *Aedes (Stegomyia) aegypti*. Ce moustique anthropophile aux mœurs diurnes, présent dans la majorité des pays tropicaux du monde, est aussi connu pour être le vecteur majeur de la fièvre jaune. Il transmet également le virus chikungunya, qui représente donc une menace directe pour la santé publique locale.

Aucun vaccin ni traitement n'étant disponible actuellement contre la dengue, le seul moyen de prévenir les épidémies est la Lutte Anti-Vectorielle (LAV), dans le cadre de laquelle sont utilisés divers insecticides, larvicides et adulticides.

Dans ce contexte, la surveillance des moustiques vecteurs par le Laboratoire d'Entomologie Médicale de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) revêt essentiellement trois aspects :

- Suivi de l'évolution spatio-temporelle de la densité d'*Aedes aegypti* dans les zones urbaines et péri-urbaines. Cette action est réalisée en continu depuis 12 ans en collaboration étroite avec la DASS-NC et les municipalités de l'agglomération de Nouméa dans le cadre du Réseau de Surveillance Entomologique de la dengue (RSE).
- Suivi de la résistance aux insecticides des populations locales de ce vecteur, également mesurée en continu selon les protocoles de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).
- Surveillance de l'introduction éventuelle de moustiques exogènes par piégeage 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.

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, et procède à des essais de nouvelles stratégies de contrôle des moustiques.

L'année 2009 a été le théâtre d'une épidémie de dengue 4 de grande ampleur. Ce virus, qui n'avait pas circulé en Nouvelle-Calédonie depuis 30 ans, s'est propagé avec rapidité dans une population humaine largement non immunisée contre ce sérotype 4 de virus. De plus, fait inédit, ce sérotype est arrivé à la fin de l'année 2008 alors que le sérotype 1, responsable de l'épidémie de 2008, circulait toujours. La disponibilité d'outils de surveillance entomologique lors d'un évènement de ce type permet de mettre en perspective les données sur la densité vectorielle et l'évolution de l'épidémie. La compréhension des atouts et des limites de la LAV s'en trouve approfondie et des pistes d'amélioration peuvent être dégagées.

Une part importante des éléments rapportés dans ce bilan a déjà été présentée dans des rapports intermédiaires ou d'autres documents.

1. LE RESEAU DE SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE DE LA DENGUE

Le RSE, fruit de la collaboration entre l'IPNC, la DASS-NC et les villes de Nouméa, du Mont-Dore et de Dumbéa, a débuté en 1997 ; il fonctionne en continu depuis 2000 dans les deux premières communes et à Dumbéa depuis 2006. Dans les premiers temps, seuls les indices classiques de l'OMS (voir détail plus loin) étaient utilisés, puis, ils ont été progressivement appuyés ou remplacés par de nouveaux indicateurs plus pertinents issus de l'expérience et d'échanges avec différents partenaires.

1.1 FONCTIONNEMENT DU RSE EN 2009

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.

1.1.1 Secteurs surveillés :

- **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.

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 dû 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 sont constitués d'un seau rempli à moitié d'eau enrichie d'une infusion de foin, et dont les bords sont garnis d'une feuille de plastique enduite d'une colle spéciale réagissant au toucher très léger des pattes de moustiques. Les insectes collés sont identifiés sur le terrain et ramenés au laboratoire pour confirmation en cas de doute.

1.1.2 Indices entomologiques :

- **Indice Maisons (IM)**. Il s'agit du pourcentage de maisons positives (maisons avec au moins 1 gîte positif *Aedes aegypti*). Il est souvent reproché à cet indice de n'avoir qu'une corrélation lointaine avec la densité vectorielle, car une habitation comportant un seul gîte avec quelques larves est comptée au même titre qu'une autre pourvue de multiples gîtes productifs. C'est néanmoins un bon indicateur de l'efficacité des actions anti-vectorielles et de la participation de la population, et c'est à ce titre qu'il doit être interprété.

- Indice de Breteau pondéré (IB pond.). Il s'agit du nombre de gîtes positifs *Aedes aegypti* pour 100 maisons visitées. Cet indice fait partie comme l'IM des indices officiels utilisés par l'OMS, mais il est ici pondéré en fonction du nombre de vecteurs immatures dénombrés dans chaque catégorie de gîtes afin de mieux rendre compte de la densité vectorielle.

- **Indice de Productivité d'Adultes** (IPA). Il s'agit du nombre d'*Aedes aegypti* en fin de stade pré imaginal (stade 4 et nymphes) par maison visitée. Cet indice est également basé sur le dénombrement des vecteurs immatures. Faisant double emploi avec le précédent, il est remplacé par l'INM (voir ci-après) à Nouméa et le sera prochainement dans les autres communes.

- **Indice Nymphes par Maison** (INM). Il s'agit du nombre de nymphes d'*Aedes aegypti* par maison visitée. Cet indice recommandé par divers auteurs remplace l'IPA. Prenant en compte seulement les nymphes qui évoluent en 2 ou 3 jours au lieu d'un temps variable pour les larves, il présente l'avantage d'être plus proche de la densité vectorielle réelle.

- **Indice Pondoirs Pièges Collants** (IPPC). Il s'agit du nombre moyen de femelles *Aedes aegypti* adultes capturées par PPC posé. Cet indice donne des indications sur la densité du vecteur au stade où se fait la transmission des virus (femelle adulte). En revanche, il présente une sensibilité variable selon les précipitations et la disponibilité en gîtes alternatifs. Ceci entraîne un biais qui demande à être interprété. Pour des raisons logistiques, il n'est jusqu'à présent mis en œuvre que dans les secteurs de Nouméa.

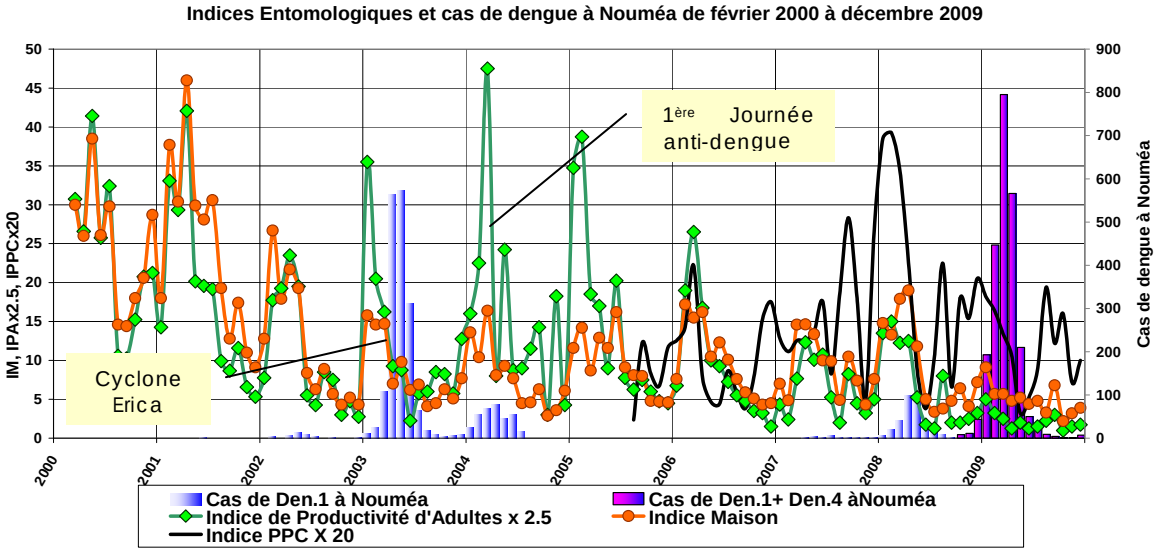
1.2 RESULTATS DU RSE EN 2009

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

Les indices entomologiques restent à un niveau modéré toute l'année bien que les valeurs soient plus élevées dans les communes périphériques. Malgré des précipitations soutenues et une température favorable au vecteur, ils sont en baisse dans tous les secteurs durant les quatre premiers mois qui correspondent au temps fort de l'épidémie, et par conséquent à une action renforcée des services de LAV combinée à une forte médiatisation des messages de prévention. Par la suite, le niveau remonte à la faveur d'un relâchement probable de la vigilance des habitants alors que la menace de la maladie se fait moins précise. L'épidémie de grippe en cours, fortement médiatisée également, a pu accentuer cet effet en détournant l'attention du public vers une autre pathologie.
On remarque à Nouméa Ouest et Nouméa Est l'augmentation de l'IPPC à partir d'août, probablement plus liée à la diminution des précipitations qu'à une réelle augmentation de la densité vectorielle.

1.2.1 Evolution des Indices et épidémies de dengue

Figure 1

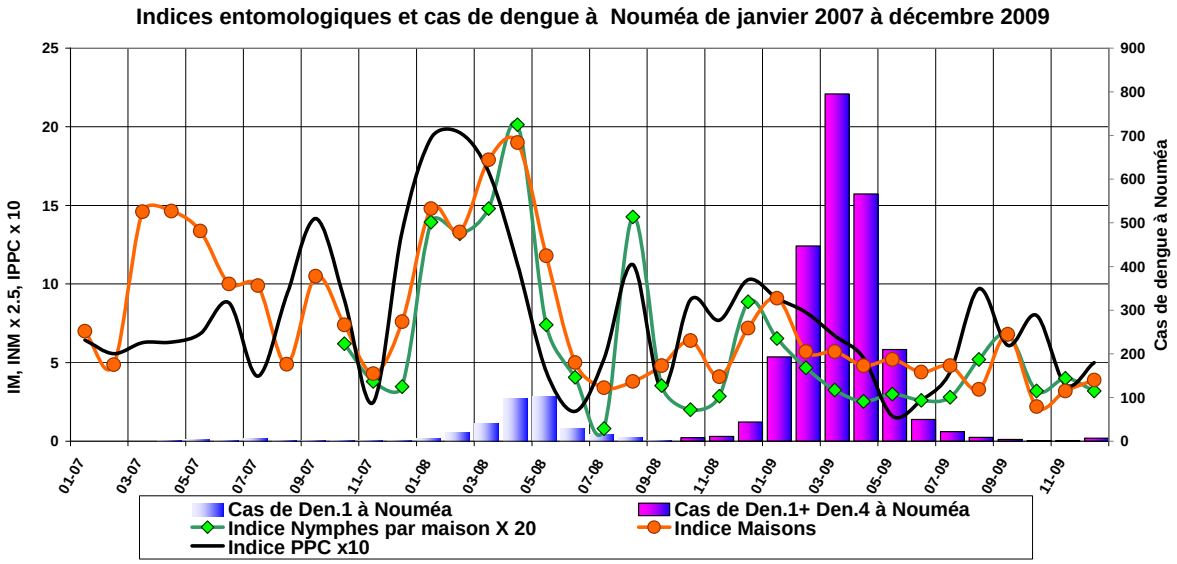


La figure 1 montre l'évolution de deux indices majeurs depuis 10 ans : l'IM et l'IPA en moyenne sur les 3 secteurs de la ville de Nouméa, ainsi que l'IPPC depuis sa mise en œuvre en 2005. La diminution de la densité vectorielle telle qu'elle est mesurée par ces indices est clairement démontrée entre les années 2000-2001 durant lesquelles l'IM atteignait des valeurs voisines ou supérieures à 40, et l'année 2009 où ce même indice reste constamment en deçà de 10. Pour des raisons non encore expliquées, l'IPA se « dissocie » de l'IM de 2003 à 2005 et affiche des valeurs très élevées. Durant cette période, il était courant pour les enquêteurs de trouver des gîtes hébergeant entre 300 et 1000 immatures d'*Aedes aegypti*, comme si la proportion plus faible de maisons positives avait été compensée par une concentration renforcée du vecteur dans les gîtes disponibles. La chute progressive de cet indice entre 2004 et 2009, avec un léger rebond en 2008, témoigne de la portée des actions de prévention et de lutte contre le vecteur. En particulier, la formation en tant qu'« éducateurs » des personnels temporaires de la Province Sud (plans RET, puis PPIC) à partir de la mi-2003 a très probablement joué un rôle de premier plan dans cette évolution.

La 1ère Journée Anti-dengue du 3 avril 2004 correspond à une baisse sensible des deux indices larvaires. Il n'est pas prouvé que cette baisse soit entièrement due à cette action, mais cela reste probable, particulièrement compte tenu des moyens importants qui avaient été mis en œuvre, en rapport avec la menace d'endémisation de l'épidémie de dengue 1.

Un autre évènement marquant survenu durant cette période est le passage du cyclone Erica le 14 mars 2003. Il a souvent été écrit que les cyclones provoquent en général une augmentation des risques de maladies transmises par les moustiques à cause des précipitations importantes qu'ils occasionnent, par les multiples possibilités d'accumulation d'eau dans des éléments de construction endommagés par exemple, et du fait que les habitants des zones sinistrées ont tendance à prioriser les réparations d'urgence par rapport à l'élimination des gîtes larvaires. Après Erica, l'effet contraire a pu être observé, en grande partie grâce aux plans d'urgence qui ont permis l'embauche temporaire d'effectifs supplémentaires pour la LAV, ainsi que la mise à disposition de personnels militaires auprès des services techniques des communes.

Figure 2



La figure 2 montre l'évolution mensuelle des indices entomologiques de octobre 2007 à novembre 2009. La corrélation assez bonne entre l'indice INM et l'IPPC est visible sur le graphique.

Il existe une 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 épidémie beaucoup plus sévère. L'explication la plus souvent retenue est que le sérotype DEN-1 en cause lors de l'épidémie du début 2008 avait déjà circulé intensément en 2003-2004 alors que le retour du sérotype DEN-4 à partir d'octobre 2008 a eu lieu après 30 années d'absence du Pays. L'absence d'immunité de groupe contre ce sérotype est en effet très probablement la cause principale de l'ampleur de l'épidémie de 2009, mais ce n'est pas la seule.

Si l'on observe attentivement les dates, on s'aperçoit que la hausse des indices entomologiques (IM et INM) en début d'épidémie intervient entre décembre 2007 et janvier 2008 pour l'épidémie de sérotype DEN-1 de 2008, et un mois plus tôt, soit entre novembre et décembre 2008 pour l'épidémie de sérotype DEN-1 + DEN-4 de 2009. Cet écart d'un mois est crucial, car en mettant « à son service » un effectif de vecteurs suffisant, il permet à la transmission virale de prendre son essor à une période où les températures sont encore en hausse, et d'atteindre dès le mois de janvier une ampleur telle que l'inversion du phénomène est rendue très difficile, même après la baisse de la densité vectorielle due à l'intensité de la LAV. Un des enseignements de ce qui précède est que la précocité des actions de prévention de la dengue, tant en matière de LAV proprement dite (ex. recrutement de personnel temporaire) qu'en ce qui concerne l'appel à la participation du public (ex. Journées de Lutte contre la dengue, campagnes dans les média…) est de première importance.

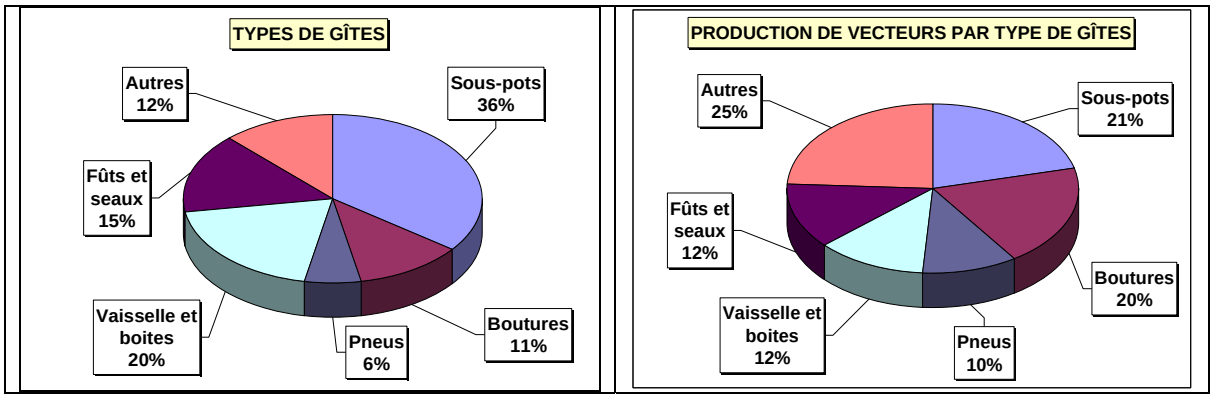
Il reste que, de toute évidence, les indices entomologiques relativement bas enregistrés en 2009 ne sont pas la garantie d'une absence d'épidémie. A ce stade, deux constatations s'imposent :

1. Aussi faibles que soient ces indices, le seuil en dessous duquel la transmission virale devient impossible n'a pas été atteint, tout au moins dans le cas de l'introduction d'un sérotype (ou virus, la menace du virus Chikungunya reste d'actualité) nouveau et avec des températures élevées.

2. Quelle que soit la compétence des agents du RSE, seuls pourront être pris en compte les gîtes détectables ; or il est probable que certains ne le soient pas (ex. gouttières, collections d'eau souterraines…). L'utilisation de l'IPPC vise à corriger ce biais, mais cet indice comporte lui aussi des limites qui ont été exposées plus haut. D'autres indicateurs, comme l'utilisation pour la surveillance des pièges BG Sentinel ou la mesure par des méthodes sérologiques du contact homme-vecteur, pourraient également être envisagés.

1.2.2 Types de gîtes et évolution

Figure 3



La figure 3 fait état des différents types de gîtes positifs relevés par les agents du RSE dans les trois communes (Nouméa, Mont-Dore et Dumbéa), et de leur contribution respective à la production de vecteurs, c'est-à-dire la proportion de larves au stade 4 et nymphes d'*Aedes aegypti* retrouvée dans chacun de ces gîtes.

On constate la faible proportion de pneus (6%), qui proviennent pour l'essentiel du Mont-Dore et de Dumbéa. Par contre, leur apport dans la production de vecteurs est plus important, à hauteur de 10%. La même observation vaut pour les seaux à boutures qui, avec 11% des gîtes, produisent 20% des vecteurs, et pour les « autres ». Cette dernière catégorie est par définition hétérogène, avec quelques plantes de type broméliacées qui hébergent peu de larves, mais aussi une forte proportion de gîtes liés à la construction (gouttières, fosses septiques inachevées, piscines ou bassins hors service…) beaucoup plus productifs.

Par contre, les sous-pots qui représentent plus du tiers des gîtes, produisent à peine plus d'un cinquième des vecteurs.

Figure 4

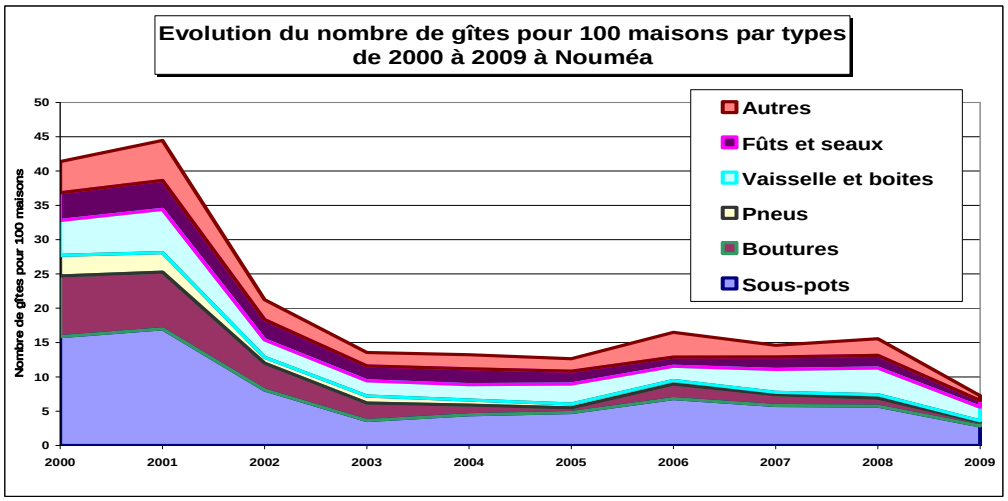
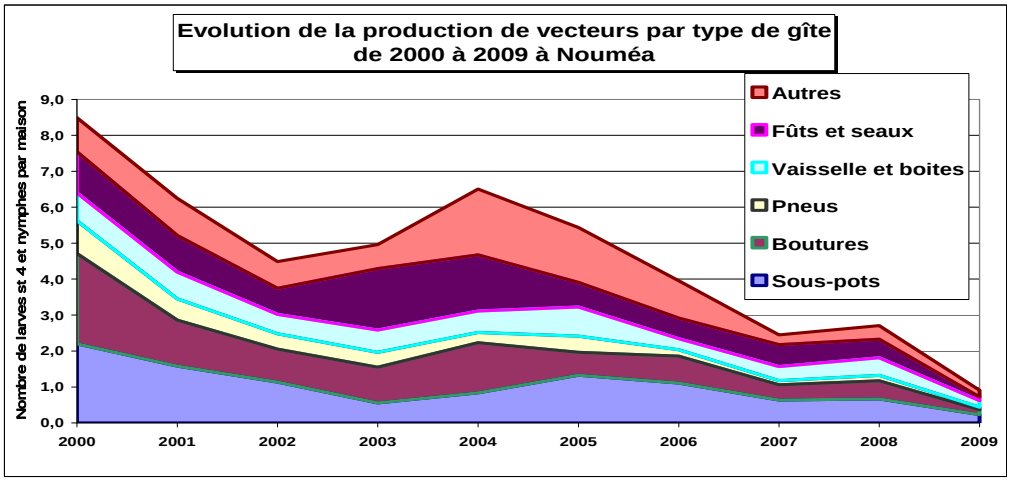


Figure 5



Les figures 4 et 5 représentent l'évolution de la structure de production d'*Aedes aegypti* à Nouméa de 2000 à 2009. Le premier donne, par type de gîte, le nombre retrouvé pour 100 maisons visitées dans l'année, et le deuxième donne, toujours par type, le nombre d'immatures (stade 4 et nymphes) d'*Aedes aegypti* par maison visitée. La ligne supérieure de la figure 4 donne en d'autres termes un IB moyen sur l'année, et celle de la figure 5 un IPA moyen, sur l'année également.

On remarquera en particulier dans la figure 5, la raréfaction spectaculaire des sous-pots, dont le nombre a été divisé par 4 (de 16 à 4 pour 100 maisons) entre 2000 et 2003. Ce nombre augmente ensuite légèrement jusqu'en 2006 pour revenir progressivement à la valeur de 3 pour 100 maisons en 2009. De la même manière, les pneus, particulièrement visés dans les messages de prévention à l'attention du grand public, ont pratiquement disparu de Nouméa en 2009, en tant que gîtes larvaires tout au moins.

Les seaux à boutures, qui ont suivi une évolution parallèle à celle des sous-pots en nombre, ont vu leur productivité augmenter sensiblement en 2004, pour retomber ensuite.

Plus encore, les « fûts et seaux » et les « autres » ont été les responsables du rebond de production de vecteurs de 2003 à 2005. Les « gîtes catastrophiques » trouvés couramment durant cette période et mentionnés plus haut se recrutaient principalement dans ces catégories, essentiellement des fûts à l'abandon à moitié remplis d'eau de pluie et de feuilles mortes, des bateaux dans des fonds de jardins et des piscines à l'abandon ou encore des bâches plastiques. Ces gîtes larvaires exceptionnels ne se rencontrent plus sur Nouméa, et sont devenus extrêmement rares ailleurs.

De même que les précédents, ces deux tableaux illustrent remarquablement les effets positifs des actions de prévention contre le vecteur de la dengue menées par la collectivité.

2. SITUATION HORS « GRAND NOUMEA »

La surveillance dans les communes de Nouvelle-Calédonie extérieures à l'agglomération de Nouméa n'est pas envisageable dans l'état actuel des choses. L'obstacle principal est représenté par la présence de plusieurs espèces de moustiques non vectrices (*Aedes notoscriptus* et *Tripteroides melanesiensis* notamment) indiscernables sur le terrain d'*Aedes aegypti* et qui, partageant les mêmes gîtes, faussent les indices de densité vectorielle et obligent à une identification plus rigoureuse encore des spécimens rencontrés. Des missions ponctuelles y sont cependant menées afin de tenir compte des spécificités du milieu rural de la Grande Terre, ou des particularités des Iles.

En 2009, des prélèvements ont ainsi été réalisés à Poindimié, Ponérihouen, Bourail et Païta. Le calcul des indices n'a pas pu être réalisé, mais des remarques ont pu être faites.

- Il arrive que des gîtes à moustiques soient retrouvés dans une proportion des habitations pouvant atteindre 70 à 80%.
- Il arrive que certaines maisons abritent un nombre élevé (jusqu'à une douzaine) de gîtes positifs *Aedes aegypti*, parmi lesquels certains très productifs (plusieurs centaines de vecteurs immatures).
- Une proportion importante des gîtes n'hébergent que des moustiques autres qu'*Aedes aegypti*.
- Les pneus constituent encore un problème récurrent en dehors de la zone urbaine.

En résumé, il est manifeste que l'évolution satisfaisante constatée en ville et aux alentours n'est pas reproduite dans l'ensemble des communes rurales. Il a longtemps été considéré que la concentration de population dans le « Grand Nouméa » conférait à cette agglomération un rôle de plaque tournante dans la transmission des virus de dengue, raison pour laquelle un surcroît d'attention lui était apporté. Cependant, à deux reprises (en 2003 et 2009), des foyers épidémiques se sont développés dans des communes rurales avant de gagner l'ensemble du pays. Pour remédier à ce genre de situation, il serait prudent de porter un regard plus attentif à ce type

d'environnement afin de mieux adapter les messages de prévention et éventuellement d'élaborer des stratégies de luttes particulières.

De la même façon, des discussions avec les responsables de la LAV des communes du « Grand Nouméa » font ressortir l'importance des « squats » dans la production de vecteurs, et par voie de conséquence dans la dynamique des épidémies.

3. SUIVI DE LA RESISTANCE AUX INSECTICIDES

La lutte contre les moustiques vecteurs de dengue en Nouvelle-Calédonie a commencé durant l'épidémie concomitante de la Seconde Guerre Mondiale. A cette époque, le risque que représentait la maladie pour les opérations militaires poussa les entomologistes à utiliser des méthodes telles que le déversement d'hydrocarbures sur les gîtes larvaires positifs ou potentiels. Ce n'est qu'à partir de l'épidémie due au sérotype DEN-3 de 1989 que des épandages de pyréthrinoïdes (deltaméthrine) en Ultra Bas Volume (en anglais Ultra Low Volume, ULV) ont été réalisées dans une optique de LAV. Depuis lors, la succession de plusieurs épidémies, puis les demandes d'interventions des administrés pour l'élimination des moustiques nuisants (*Aedes vigilax, Culex quinquefasciatus*…) ont conduit à une généralisation de cette méthode et durant les années 1990, des nébulisations systématiques de deltaméthrine étaient réalisés à des intervalles de 2 à 3 semaines pendant la saison chaude dans une grande partie des zones habitées de Nouvelle-Calédonie.

Afin de surveiller la sensibilité des populations locales d'*Aedes aegypti* à cet insecticides, des tests sont conduits régulièrement selon le protocole et avec du matériel et des produits de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Les moustiques testés sont issus de populations collectées sur le terrain (F0) aux stades immatures, généralement dans le cadre des enquêtes du RSE. Ces moustiques sont élevés à l'insectarium et reproduits (sauf dans le cas de *Cx. quinquefasciatus*, espèce pour laquelle il est généralement possible de trouver des F0 en quantité suffisante), afin d'obtenir un nombre de spécimens suffisant (F1 ou F2) pour la réalisation des tests, soit environ 300 à 400. Chaque population est issue d'un seul gîte larvaire, ou dans certains cas de plusieurs gîtes identiques très proches les uns des autres.

Les tests sont réalisés à l'aide de la méthode OMS dite « aux papiers imprégnés » d'insecticides à une concentration provoquant sur une souche sensible d'*Aedes aegypti* 100% de mortalité après un temps de contact d'une heure. La mortalité est observée après 24 heures. Toutefois, les résultats de tests antérieurs nous ont suggéré la possibilité d'exposer les insectes pendant 50 mn seulement sauf cas particuliers.

3.1 SENSIBILITE DES MOUSTIQUES A LA DELTAMETHRINE EN 2009

Tableau 1a.

Population testée		***Aedes aegypti***							
		Païta Scheffleras	Poindimié	Nouméa Anse Vata	Dumbea Koutio	Païta Scheffleras	Nouméa PK4	Païta Ondémia-Ma Plaine	Tontouta
Date de capture		15/01/09	18/02/09	16/02/09	09/04/09	16/04/09	15/05/09	22/06/09	19/05/09
Type de gîte		Divers	Marmite	Seau	Vaisselle	Pot + pneus	Vases au cimetière	Pneu	Pneu
Mortalité en fonction du temps de contact	35 mn								
	45 mn								
	50 mn	**97%**	**100%**	**85%**	**87%**	**97%**	**88%**	**98%**	**99%**
	60 mn								

Tableau 1b.

Population testée		*Aedes aegypti*					*Culex quinquefasciatus*	
		Mont Dore Yahoué	Nouméa Ste Marie	Nouméa Anse Vata	Dumbéa Squatt SPANC	Dumbéa Koutio	Nouméa Vallée des Colons	Nouméa Ouémo
Date de capture		30/07/09	25/06/09	14/08/09	06/08/09	07/08/09	16/04/09	04/09/09
Type de gîte		Boutures	Arrosoir	Bouture	Pneus	Fût	Chantier de construction , flaque	Caniveau collecteur
Mortalité en fonction du temps de contact	35 mn							
	45 mn							
	50 mn	**100%**	**98%**	**85%**	**96%**	**93%**	**55%**	**64%**
	60 mn							

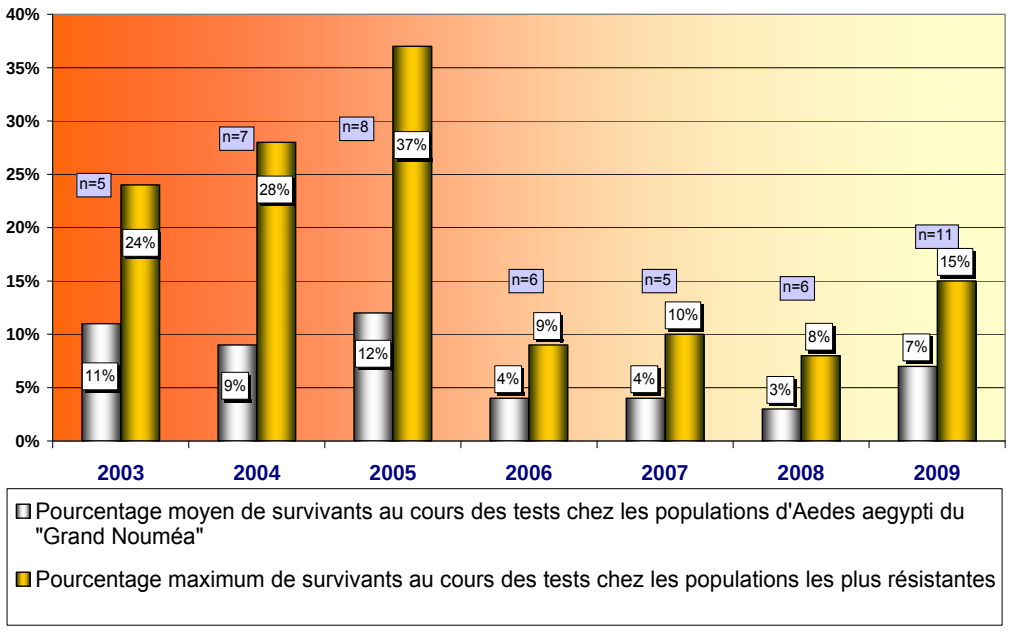
Les tableaux 1a et 1b représentent les mortalités obtenues pour les 13 populations d'*Aedes aegypti* et les deux populations de C*ulex quinquefasciatus* testées en 2009 vis-à-vis de la deltaméthrine. La mortalité est normale pour les *Aedes aegypti* issus de la Province Nord, et assez satisfaisante (99%) pour ceux provenant de Tontouta. Pour les populations du « Grand Nouméa », les mortalités s'échelonnent de 85% à l'Anse Vata à 100% à Yahoué. On constate que les mortalités obtenues sur les populations de *Cx. quinquefasciatus* sont bien en deçà de ces valeurs, montrant une diffusion des gènes de résistance plus importante chez cette dernière espèce.

3.2 SENSIBILITE DES MOUSTIQUES AU MALATHION

Le malathion, insecticide faisant partie de la famille des organophosphorés, avait été utilisé sporadiquement par le Bureau Municipal d'Hygiène de la Ville de Nouméa avant le passage à la deltaméthrine à partir de 1989. A la suite de la mise en évidence d'une perte de sensibilité à ce dernier insecticide en 2003 et par souci d'éviter une aggravation du phénomène, il a été réintroduit dans le cadre de la LAV en 2006 dans les communes touchées par la résistance après une révision des protocoles de mise en œuvre. Utilisé durant l'épidémie de DEN-1 de 2008, il a de nouveau été remplacé en 2009 par la deltaméthrine, d'un usage plus souple et répondant mieux aux exigences d'une épidémie de grande ampleur. Actuellement, ce produit a été retiré de la liste des biocides autorisés en Europe, mais reste conseillé par l'OMS ainsi que par plusieurs agences gouvernementales de protection de l'environnement (USA, Canada…). Son utilisation en Nouvelle-Calédonie ne rencontre pas d'obstacle légal, c'est pourquoi dans l'éventualité d'un retour à son utilisation, la sensibilité à cet insecticide des populations d'*Aedes aegypti* résistantes à la deltaméthrine a été testée. On constate une sensibilité normale des populations locales du vecteur au malathion.

3.3 EVOLUTION DE LA RESISTANCE AUX INSECTICIDES

Figure 6.



La figure 6 illustre l'évolution de la résistance d'*Aedes aegypti* à la deltaméthrine de 2003 à 2009. Avant cette période, des tests avaient déjà suggéré une perte de sensibilité du vecteur à cet insecticide. Le tableau 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 a été formellement déconseillée par les autorités sanitaires et l'usage de la deltaméthrine réservé à la lutte contre le vecteur dans le cadre d'actions périfocales. Cependant, la circulation intense du virus DEN-1 durant les années 2003 et dans une moindre mesure 2004 (environ 6400 cas déclarés en tout pour l'ensemble de la Nouvelle-Calédonie) a entraîné une utilisation importante de ce produit. De plus, les particuliers continuent à utiliser des insecticides de la même famille (pyréthrinoïdes) pour des usages domestiques et horticoles. Il en résulte un maintien de la pression insecticide sur le vecteur et une augmentation de la résistance jusqu'en 2005. Pour les années 2006 et 2007, on enregistre seulement des cas de dengue sporadiques, et les aspersions périfocales sont traitées au malathion. La résistance décroît nettement, malgré un maintien de l'usage de pyréthrinoïdes par les particuliers. La tendance s'accentue en 2008 avec une reprise de la transmission du virus DEN-1 et des aspersions périfocales toujours traitées au malathion, et on observe un retour progressif vers la normale. Par contre, ainsi qu'il a été dit plus haut, l'ampleur de l'épidémie de DEN-4 dès le début 2009 conduit à utiliser de nouveau la deltaméthrine. Le retour de la pression insecticide se traduit aussitôt par un accroissement de la résistance.

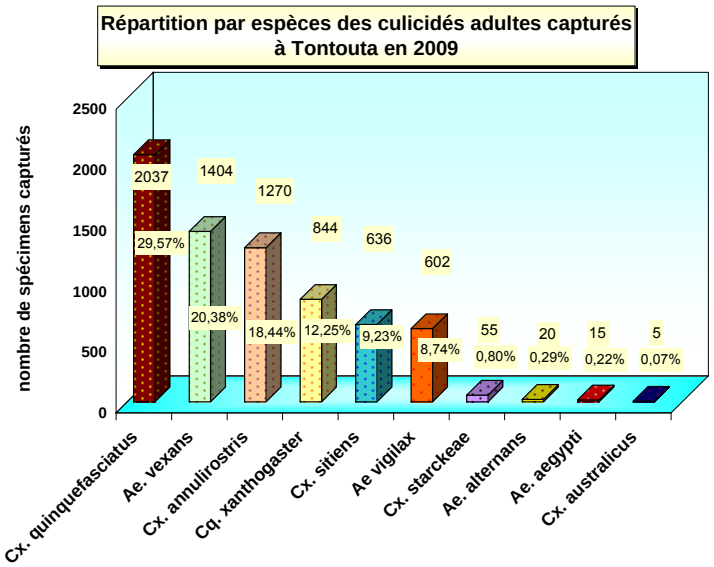
4. SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE AUX FRONTIERES

La Nouvelle-Calédonie jouit d'une situation relativement privilégiée par rapport à l'ensemble du monde tropical du point de vue des insectes vecteurs. En effet, seule une espèce de moustique vecteur de maladie (*Aedes aegypti*) y est présente, et aucune introduction d'espèce exogène n'a eu lieu depuis au moins une cinquantaine d'années (cf. inventaire de Jean Rageau dans les années 1950).
Cependant, cette situation reste précaire : la croissance continue des voyages et des échanges internationaux favorisent les risques d'introduction d'insectes de multiples façons, et la Nouvelle-Calédonie ne constitue pas à priori un milieu hostile pour nombre d'espèces potentiellement dangereuses. Les points d'entrée probables de telles espèces sont 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.
Par ailleurs, le Règlement Sanitaire International (RSI) précise 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.

4.1 SURVEILLANCE DE L'AEROPORT INTERNATIONAL DE TONTOUTA

La surveillance entomologique de l'Aéroport International est réalisée par des missions ayant lieu toutes les 2 semaines. De plus, des prélèvements de larves de moustiques sont effectués tant au cours des missions du personnel de l'IPNC que par le personnel du SIPRES de la Ville de Nouméa chargé de la LAV dans le périmètre de l'aéroport.
En 2009, 23 missions ont été effectuées, au cours desquelles ont été capturés et identifiés un total de 688 moustiques adultes. De plus, les prélèvements d'échantillons de larves ont permis l'identification de 927 moustiques immatures.

Figure 7



La figure 7 donne la répartition par espèces des moustiques adultes. On peut constater la prédominance d'espèces inféodées à des collections d'eau douce pluviale (*Aedes vexans, Culex annulirostris, Coquilletidia*

xanthogaster), ou permanente (*Culex quinquefasciatus*). Les moustiques d'eau salée ou saumâtre (*Culex sitiens, Aedes vigilax*), sont en minorité.

Les prélèvements de larves ont permis l'identification de 522 *Aedes vexans*, 346 *Aedes aegypti,* 58 *Culex quinquefasiatus* et 1 *Aedes alternans.*

A part *Aedes aegypti,* aucune des espèces rencontrées n'est considérée comme vectrice de maladie en Nouvelle-Calédonie, et aucune introduction d'espèce exogène n'est à signaler.

En revanche, le nombre de larves du vecteur de la dengue est en augmentation par rapport aux années précédentes.

Figure 8

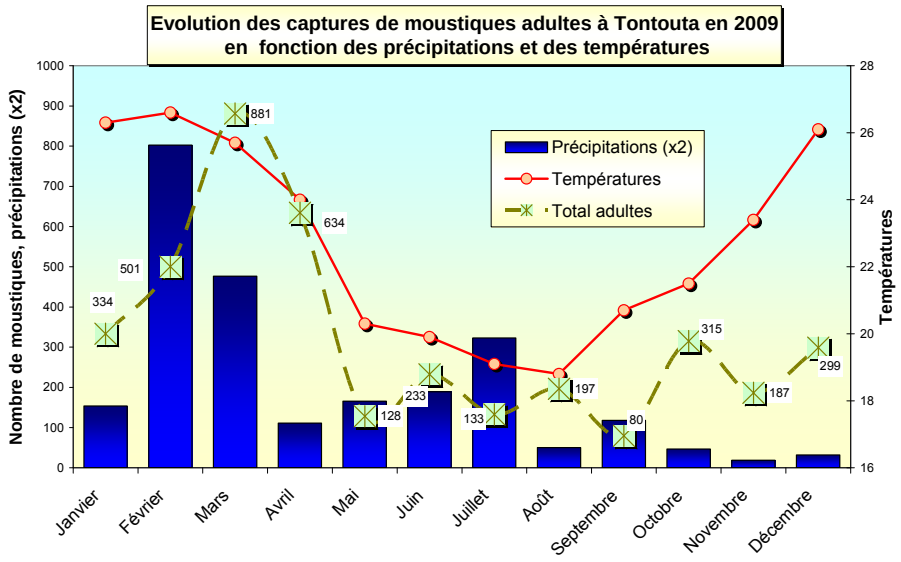
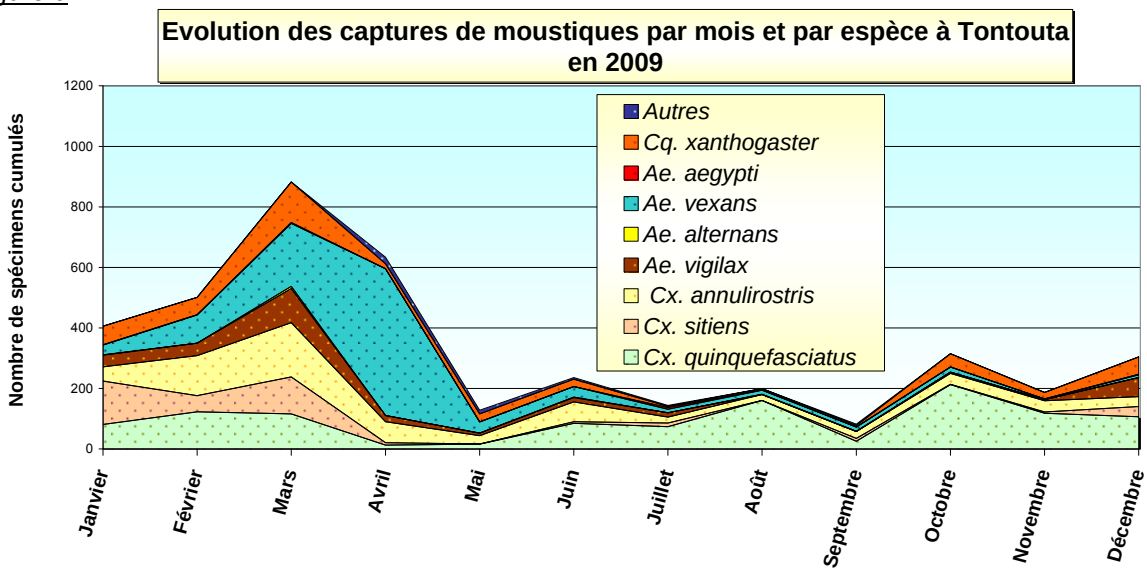


Figure 9



Sur la figure 9, la valeur indique le nombre de spécimens capturés en moyenne par mission pour le mois considéré.

Les moustiques d'eau douce pluviale sont retrouvés en majorité après les précipitations importantes de février et mars. En revanche, les *Culex quinquefasciatus* immatures, fréquemment retrouvés dans les caniveaux, sont souvent lessivés lors des fortes précipitations et on les retrouve plutôt en période sèche, lorsque leurs gîtes habituels sont alimentés par les eaux usées. Ce sont eux alors qui représentent l'essentiel des captures.

4.2 SURVEILLANCE DES ZONES PORTUAIRES DE NOUMEA

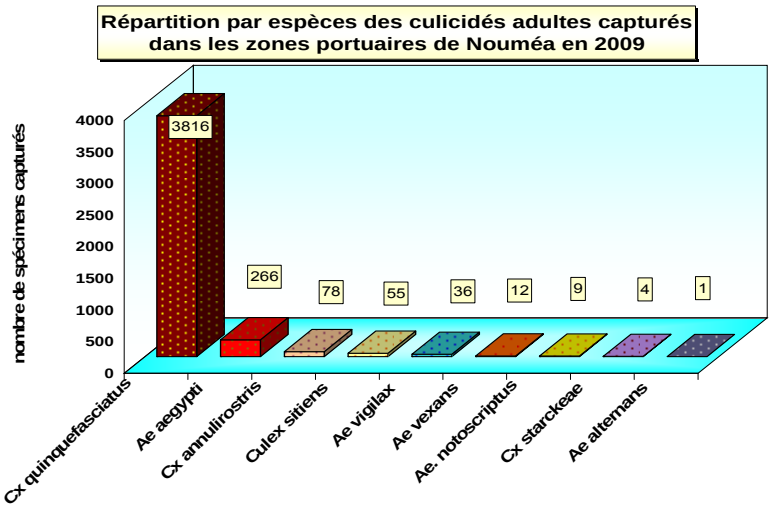
Six zones portuaires de Nouméa susceptibles de recevoir des navires en provenance de l'étranger sont surveillées en continu sur un rythme hebdomadaire.

1. Le port des carburants de Numbo (Sté Mobil).
2. Le port de la cimenterie Holcim à Numbo.
3. Le port de la Société Le Nickel.

4. Le Port Autonome de la Nouvelle-Calédonie.
5. La marina de Port Moselle (Sté SODEMO).
6. La base Navale de la Pointe Chaleix.

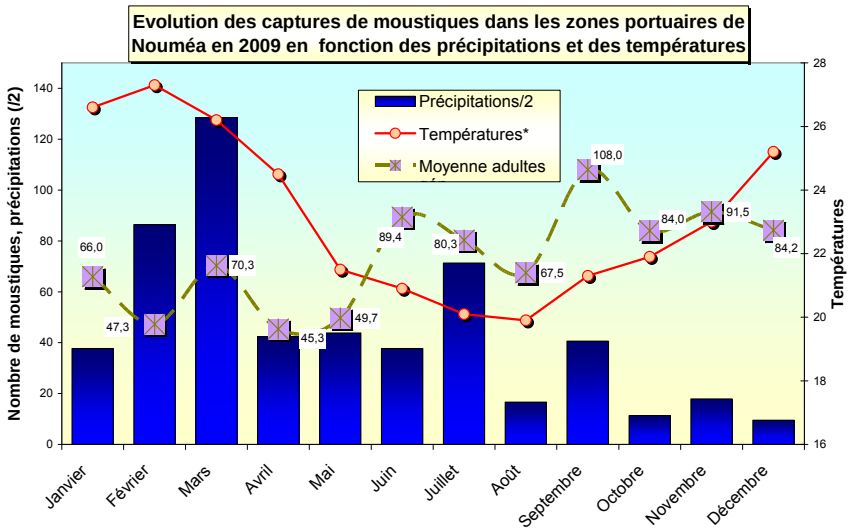
Dans toutes ces zones, des pièges pondoirs collants destinés à la capture et au repérage des moustiques du genre *Aedes* (principales espèces visées : *Aedes albopictus, Aedes polynesiensis*, autres espèces du complexe *scutellaris*) sont mis en place en permanence et relevés chaque semaine. De plus, 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 moins régulière, reçoivent ce type de piège quand un navire à risque est signalé.
Au total, 2483 moustiques adultes ont été capturés dans les pièges lumineux, et 1794 dans les PPC, soit 4277 en tout.

Figure 10



Les *Culex quinquefasciatus* représentent près de 90% des captures. La majeure partie provient de la SLN et du Port autonome où des pièges sont posés dans les environs de fosses septiques en mauvais état. Ces problèmes ont été signalés et une solution devrait être trouvée prochainement.
Aedes aegypti vient au deuxième rang en nombre de captures. Une grande part de ces moustiques provient des alentours du port de la Société Holcim, où des entreprises ont des activités susceptibles de générer des gîtes à *Aedes aegypti*. La solution de ce problème n'est à priori pas du ressort de ladite société et des suggestions ont été faites à ce sujet.
De même qu'à Tontouta, aucune introduction d'espèce exogène n'est à signaler.

Figure 11



Sur la figure 11, les valeurs indiquent le nombre de culicidés adultes capturés en moyenne par semaine pour le mois considéré. S'agissant pour l'essentiel de *Culex quinquefasciatus* provenant principalement de réserves d'eau artificielles, il est normal que le volume des captures soit indépendant des précipitations. Les températures en Nouvelle-Calédonie autorisent toute l'année la reproduction de cette espèce de moustique.

Conclusion

Une nouvelle épidémie de dengue, particulièrement sévère en termes de morbidité, a eu lieu en Nouvelle-Calédonie durant l'année 2009. Les données entomologiques disponibles ont permis de dégager des éléments encourageants : densité vectorielle particulièrement faible, absence de gîtes larvaires exceptionnels et en général bonne réponse des particuliers aux messages de prévention dans les zones surveillées. En contrepartie, certains points faibles à améliorer ont été identifiés : des zones d'ombre existent « en brousse » et leur impact sur l'évolution des épidémies est vraisemblablement important, il existe probablement en ville des gîtes difficilement repérables qui doivent être identifiés et/ou contrôlés, et enfin, quels que soient les bons résultats obtenus jusqu'ici, l'évidence impose d'aller plus loin encore.

La stratégie de lutte contre la maladie ciblant la destruction des vecteurs immatures et adultes autour des cas biologiquement confirmés a probablement permis d'empêcher une extension plus grande encore de l'épidémie et, par voie de conséquence, amélioré la prise en charge des malades, réduisant au minimum la mortalité. Cette stratégie, rendue possible en 2009 grâce aux mesures prises dans le passé afin de limiter l'extension du phénomène de résistance aux insecticides, est de nouveau menacée par une recrudescence de cette résistance. Une grande prudence devra guider les décisions prises quant à l'évolution de cette stratégie, et toutes les ressources de la recherche devront être mises à contribution pour alléger la Nouvelle-Calédonie du fardeau d'épidémies futures.

Quel que soit le poids de ce fardeau, il reste relativement supportable comparé à celui qu'entraînerait l'introduction de nouvelles maladies à transmission vectorielle dont l'une des plus terribles, le paludisme, est à nos portes. La surveillance en cours pour éviter une telle introduction devra être continuée sans relâche.

REGISTRE DU CANCER DE NOUVELLE-CALEDONIE

Responsable :

- Francine Baumann, Épidémiologiste

Collaborateurs IPNC :

- Elodie Magnat, Épidémiologiste (VCAT)
- Rachèl Dambreville, Secrétaire médicale
- Sylvain Mermond, Médecin biologiste

Collaborateurs externes :

- Vincent Rouleau, Responsable du service d'anatomo-cyto-pathologie du CHT G. Bourret, Nouméa
- Dominique Dubourdieu et Viviane Verhaegen, responsables laboratoire d'anatomie pathologique de l'Alma, Nouméa
- Erick Camus, Chef du Service de Gynécologie du CHT G.Bourret, Nouméa
- Les médecins du Service de Pneumologie du CHT G.Bourret, Nouméa
- Catherine Helloin, Chef du Service Administratif du Contrôle de Médical, CAFAT, Nouméa
- Sylvie Laumond-Barny, Médecin épidémiologiste, DASS, Nouméa
- Bernard Rouchon, Directeur de l'Agence Sanitaire et Sociale de Nouvelle-Calédonie, Nouméa

Le registre remercie :

- Les médecins et services hospitaliers pour les déclarations de cancers ainsi que leurs secrétaires très souvent sollicitées pour des compléments d'informations.
- Le Réseau Oncologique Pluridisciplinaire pour leur collaboration.
- Le service administratif du contrôle médical de la CAFAT et les services d'état civil des mairies pour leurs recherches concernant le statut vital des patients.
- Le service des archives du CHT pour nous avoir permis d'accéder à d'anciens dossiers.

Introduction

Le Registre du Cancer (RC) de Nouvelle-Calédonie recense toutes les tumeurs malignes survenues chez les résidents de Nouvelle-Calédonie, y compris celles diagnostiquées ou traitées à l'extérieur du pays. Sont exclues : les tumeurs bénignes, les récidives et les métastases dont la tumeur primitive est connue et enregistrée. Les tumeurs malignes *in situ* sont enregistrées mais exclues de l'analyse. Les tumeurs cutanées autres que mélanomes sont enregistrées mais analysées séparément. La tâche principale du RC est le recensement continu, exhaustif et nominatif de tous les cas de cancers de Nouvelle-Calédonie. Les missions du registre sont : la surveillance épidémiologique des cancers (incidence, gravité, évolution en fonction du site anatomique, du type histologique, différences inter ethniques ou géographiques…), l'évaluation de programmes de dépistage, de prévention ou de la prise en charge thérapeutique ainsi que la conduite de travaux de recherche épidémiologique (particularités de la NC, facteurs de risque liés au mode de vie…). Le registre fonctionne sous la supervision d'un Comité du Registre présidé par la DASS NC. Ce comité se réunit annuellement pour valider les travaux de l'année, discuter des problèmes rencontrés par le registre, et formuler des recommandations pour l'année à venir.

Les principaux objectifs pour l'année 2009 étaient de :
- Recueillir de manière la plus exhaustive possible les cas de cancers diagnostiqués en 2008 et les enregistrer ;
- Améliorer la qualité du registre et son contrôle ;
- Réaliser et poursuivre différents travaux de recherche épidémiologique ;
- Réaliser et diffuser une plaquette présentant les données 2007 et l'évolution observée sur 30 ans des tendances des incidences standardisées et des stades au diagnostic (1978-2007).

1. RECUEIL ET ENREGISTREMENT DES CAS DE CANCERS 2008

1.1 SOURCES DE DONNEES

Les différentes sources de données du registre sont :
- les deux laboratoires d'anatomo-cyto-pathologie. Tous les comptes-rendus concernant un diagnostic de cancers sont récupérés trimestriellement auprès du laboratoire du CHT. Concernant les laboratoires du secteur libéral, les comptes-rendus sont récupérés par la DASS puis transmis à l'IPNC.
- le laboratoire de cytologie (hématologie) de l'IPNC. Les doubles des comptes-rendus sur les leucémies et les myélomes sont recueillis.
- les déclarations de cancers adressés par les médecins et chirurgiens (CHT, cliniques privés, dispensaires…). Ces déclarations ne sont pas exhaustives. Les médecins référents sont fréquemment contactés pour compléter les données manquantes. Alors que les données administratives sont généralement obtenues (ethnie,

adresse…), les données médicales, en particulier le stade précis au diagnostic et les traitements, sont obtenus de façon beaucoup plus hétérogènes.

- le service des archives du CHT. L'accès à cette source a été obtenu en 2008 pour les dossiers de pneumologie et utilisé en 2009 pour les cancers du col de l'utérus.
- le service du contrôle médical de la CAFAT, caisse primaire d'assurance maladie. Une liste de patients du registre est envoyée à ce service pour vérification et ajout de données (résidence, date naissance, etc...)
- les bases informatisées de données du CHT et des analyses médicales du laboratoire de l'IPNC, consultées systématiquement pour chaque nouveau cas.
- les certificats du registre décès de la DASS : nouvelle source de données (2.4).
- les services d'état civil des mairies. Une autorisation du procureur nous autorise de récupérer auprès des mairies le statut vital des patients.
- l'utilisation des marqueurs tumoraux : nouvelle source de données (2.4).

1.2 CODIFICATION ET SAISIE

Après recueil de toutes les fiches de déclaration et comptes-rendus de laboratoire pour une année, une fiche de déclaration unique est remplie. Toute fiche de déclaration fait l'objet d'une recherche de doublons à partir des données nominatives, du site et de l'histologie, en consultant un fichier cartonné de l'ensemble des tumeurs déjà enregistrées. Les données d'extension ne sont modifiées que si elles concernent une date inférieure à 6 mois après la date de diagnostic. En cas de doute, un contrôle de validation peut être demandé auprès d'un médecin pathologiste ou hématologiste.
Les fiches de déclaration sont codées suivant les règles établies par l'IARC, qui sont intégrées dans le logiciel de saisie et de contrôle CANREG4 : topographie et morphologie / ICDO-3, stade d'extension / SEER et TNM.
Les fiches de renseignement complétées sont saisies sur le logiciel CANREG4, qui attribue un numéro d'identification unique par tumeur. Avant validation, CANREG4 effectue un contrôle de cohérence des données et un contrôle de probabilité de doublon.

En 2008, 615 cas de cancer ont été enregistrés. Ces données seront complétées et validées en 2010 par le comité du registre avant leur publication.

2. AMELIORATION ET CONTROLE DE LA QUALITE DU REGISTRE

2.1 PROCEDURES

Dans le cadre d'une amélioration de la qualité du registre, plusieurs procédures ont été revues et de nouvelles procédures ont été créées. Une nouvelle procédure de codage des stades au diagnostic devra être mise en place. La recherche du TNM ou du stade d'extension devra être régularisée pour toutes les déclarations.

2.2 INTEGRATION DE NOUVELLES VARIABLES DANS LE LOGICIEL

La version 4 du logiciel CANREG permet l'enregistrement de nouvelles variables, en particulier les noms et prénoms, nombre de sources et stade TNM. En 2009, l'ensemble des données depuis la création du registre ont été reprises et enregistrées, c'est-à-dire environ 11 500 dossiers.

2.3 RECHERCHE DE DOUBLONS

La version CANREG4 a ainsi facilité la recherche de doublons d'après leur nom et prénom. Au total, 136 doublons (hors cancers de la peau) ont été repérés et supprimés de la base de données.

2.4 NOUVELLES SOURCES DE DONNEES

Afin de contrôler et d'améliorer l'exhaustivité des données du registre, les résultats des marqueurs tumoraux réalisés à l'IPNC ont été ajoutés. Les patients non inscrits au registre et ayant un taux supérieur à un seuil fixé sont au nombre de 144 pour lesquels nous avons obtenu 64 réponses de médecins. Parmi eux, 36 (56%) étaient bien des nouveaux cas de cancers. Cette démarche a été concluante surtout pour les marqueurs AFP, CA125 et ACE.
Le registre des décès a également été consulté à plusieurs reprises cette année. Pour chaque site anatomique de cancers, un double croisement entre les 2 bases a été réalisé avec le médecin épidémiologiste de la DASS. Un grand nombre de dates de décès, de causes de décès mais aussi quelques nouveaux cas de cancers sans compte-rendu anatomopathologique ont été récupérés de cette façon. Ce système de croisement, testé cette année pour tous les cancers du col de l'utérus, du foie et de l'estomac, s'est montré efficace.
La collaboration avec le réseau oncologique pluridisciplinaire de Nouvelle-Calédonie a permis de compléter les données et dossiers manquants des patients ayant fait l'objet d'une réunion de concertation pluridisciplinaire en 2009.

Un nouveau service de la CAFAT sera disponible en 2010 : le « e-services CAFAT » permettra d'améliorer la qualité des données d'état civil, etc. L'ajout de la variable « couverture sociale » serait intéressante afin de repérer d'éventuelles différences socio-économiques.

3. TRAVAUX DE RECHERCHE EPIDEMIOLOGIQUE

Plusieurs travaux de recherche sont en cours ou ont été finalisés en2009 :
- Évaluation de la campagne de dépistage du cancer du col de l'utérus en Nouvelle-Calédonie et population à haut risque.
- Étude de la survie des cancers broncho-pulmonaires en Nouvelle-Calédonie, 1990-2005.
- Mésothéliome et exposition à l'amiante environnemental.

4. PLAQUETTE D'INFORMATIONS

Une plaquette du registre du cancer est réalisée chaque année et envoyée à tous les médecins, services hospitaliers et dispensaires de NC, à l'association de la Ligue contre le cancer et autres collaborateurs. Dans la plaquette 2009 figurent l'analyse des cancers diagnostiqués en 2007, l'analyse de l'évolution de tous les cancers pendant 30 ans (1978 à 2007, N= 9981), les résumés sur l'évaluation de la campagne de dépistage du cancer du col de l'utérus et l'étude de survie des cancers broncho-pulmonaires.

ACTIVITES DE RECHERCHE

LABORATOIRE DE RECHERCHE EN BACTERIOLOGIE 78
LEPTOSPIRES ET LEPTOSPIROSES 78
ETUDES SUR LES VIBRIO PATHOGENES DES CREVETTES D'ELEVAGE COLLABORATION AVEC L'IFREMER 82

LABORATOIRE DES BIOTOXINES 84

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE 87
LA DENGUE 87
EPIDEMIOLOGIE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES DE L'ENFANT EN NOUVELLE-CALEDONIE (PERCH-NC) 91
BIO-PROSPECTION ET BIODIVERSITE DE MICRO-ORGANISMES DES MILIEUX EXTREMES DES LAGONS DE LA NOUVELLE-CALEDONIE 92

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE 93
FACTEURS DE RISQUE DU MESOTHELIOME EN NOUVELLE-CALEDONIE, DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES ET GEOLOGIQUES 93

LABORATOIRE DE RECHERCHE EN BACTÉRIOLOGIE

Responsable :
- Cyrille GOARANT, Dr Vet., Dr Sc.

Chercheurs :
- Frédérique VERNEL-PAUILLAC, Ingénieure de recherche jusqu'à août 2009
- Julie PEREZ, Volontaire Civile à l'Aide Technique, depuis août 2008
- Marlène VIC, Volontaire Civile à l'Aide Technique à l'Ifremer, depuis septembre 2008, détachée à 4/5^{e} de temps au LRB
- Carine MAURON, technicienne de recherche à partir de juillet 2009

Collaborateurs locaux :
- Patrick BARRIERE (Centre de Régulation des Gros Gibiers)
- Sylvana BIMA (Vétérinaire libérale à Bourail)
- Dominique BONTE (Service des Urgences, Centre Hospitalier Territorial)
- Fabrice BRESCIA (Institut Agronomique néo-Calédonien)
- Yannick LABREUCHE (Institut Français pour l'Exploitation de la Mer IFREMER)
- Flore LACASSIN (Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Territorial)
- Sylvie LAUMOND-BARNY (Direction des Affaires Sanitaires et Sociales, Nouvelle-Calédonie)
- Céline MARCHAL (Laboratoires Officiels de la Nouvelle-Calédonie)
- Marc MIKULSKI (Service de Réanimation / Soins intensifs, Centre Hospitalier Territorial)
- Frédéric TOUZAIN (Service de Transfusion Sanguine, Centre Hospitalier Territorial)

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 et Frédéric QUEUCHE (Institut Pasteur de Guyane)
- Pascal BOISIER (Centre Pasteur du Cameroun)
- Mireille DOSSO et Kouamé KOUADIO (Institut Pasteur de Cote d'Ivoire)
- Bertrand GUILLARD, Didier MENARD et Sopheak HEM (Institut Pasteur du Cambodge)
- Frédérique LE ROUX (IFREMER détachée à Harvard Medical School)

LEPTOSPIRES ET LEPTOSPIROSES

1. INDICATEURS PRONOSTIQUES DANS LES FORMES GRAVES DE LEPTOSPIROSE

1.1 CONTEXTE ET RAPPEL

La leptospirose chez l'homme a des présentations cliniques très variées, allant d'une maladie bénigne à guérison spontanée à des formes graves, incluant 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 proposer une prise en charge adaptée. Dans l'état actuel des connaissances, il n'existe que très peu de critères objectifs autres que ceux recueillis lors de l'examen clinique pour confirmer ce pronostic.
Le projet « Interactions des effecteurs immunitaires de l'hôte avec les Leptospires pathogènes : rôle et importance des cytokines » avait débuté en 2005 et visait à décrire la réponse cytokinique à une infection par *Leptospira* et à évaluer si certains éléments de cette réponse peuvent constituer des indicateurs pronostiques de gravité de l'expression clinique de cette maladie.

Lors de l'infection expérimentale du hamster (hôte sensible) par une souche virulente de *Leptospira*, la cascade d'expression des cytokines pro- et anti-inflammatoires avait été établie grâce à l'étude de la cinétique de production de leurs ARNm. Ceci avait permis d'établir un profil de production en termes d'évènements précoces (durant les premières 24 h), et tardifs (de 1 à 4 jours post-infection) à l'aide d'un modèle d'infection sévère sur modèle animal. Des explants primaires de cellules de hamsters infectés par la même souche de *Leptospira* virulente ont été étudiés par la même technique moléculaire, confirmant la pertinence de cette approche, puisque la réponse observée de ces cellules isolées de hamsters placées en culture est comparable à celle observée *in vivo* lors de l'infection des animaux. Nos travaux en 2008 visaient, après infection par une souche virulente de *Leptospira*, à établir un profil cytokinique spécifique selon que l'issue de l'infection *in vivo* chez le hamster est létale ou non, afin de mettre en évidence des facteurs pronostiques d'évolution de la maladie. Ces facteurs à valeur pronostique seraient ensuite étudiés sur des cas de leptospirose humaine.

1.2 OBJECTIFS

Nos travaux de l'année 2009 ont d'abord visé à confirmer et valider sur le modèle animal les résultats obtenus en 2008. D'autre part, la mise en place d'une étude clinique en collaboration avec le Centre Hospitalier de Nouvelle-Calédonie devrait nous permettre d'évaluer la pertinence de ces paramètres lors des leptospiroses humaines.

1.3 ÉVALUATION DE LA VALEUR PRONOSTIQUE DES NIVEAUX D'EXPRESSION GENIQUE DES CYTOKINES CHEZ LE HAMSTER

Nos travaux en 2009 ont tout d'abord permis de confirmer nos résultats obtenus en 2008 et ont permis leur publication. Ainsi, il a été montré que les cytokines Interleukin (IL-) 1α, IL-10 et le Tumor Necrosis Factor (TNF) α ainsi que l'enzyme Cyclo-oxygénase-2 (Cox-2) étaient significativement plus exprimés 3 jours après l'infection chez les hamsters pour lesquels l'issue de la leptospirose était fatale. A l'opposé, l'IL-6, dont la valeur pronostique est fréquemment admise dans le choc septique, n'est pas exprimée de façon différentielle et présente une très forte variabilité inter-individuelle d'expression. Ce travail a également confirmé que la leptospirémie avait une valeur pronostique de l'issue de l'infection. Ces travaux ont été publiés (Vernel-Pauillac et Goarant, 2010) et nous ont confortés dans le choix de débuter une étude clinique.

1.4 MISE EN PLACE D'UN PROJET D'ETUDE DE LA REPONSE CYTOKINIQUE DE PATIENTS HOSPITALISES POUR LEPTOSPIROSE.

Les résultats suffisamment solides obtenus sur notre modèle animal nous ont permis d'envisager l'étude de ces mêmes facteurs pronostiques chez des humains volontaires atteints d'une leptospirose. La collaboration établie avec les cliniciens du Centre Hospitalier Territorial (Drs. Flore Lacassin, Marc Mikulski et Dominique Bonte), avec un médecin épidémiologiste du Centre Pasteur du Cameroun (Pascal Boisier) et avec la Direction Médicale de l'Institut Pasteur de Paris (Annick Dubois), ont permis d'établir le protocole de suivi des patients, de mettre en forme une demande d'autorisation de recherche biomédicale et de préciser les termes du formulaire de consentement éclairé.

Le délai nécessaire à l'obtention de l'autorisation de recherche biomédicale a repoussé le début de cette étude à la fin du premier trimestre 2009. A partir de ce moment, la participation à l'étude a été proposée aux patients adultes consentants hospitalisés pour une leptospirose au Centre Hospitalier Territorial. Vingt patients ont ainsi pu être inclus dans l'étude au cours de l'année 2009.

2. 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 rats (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.

Dans le cadre d'un site pilote (les tribus de Pothé et Bouirou sur la commune de Bourail), nous avons caractérisé les populations de rongeurs et les souches de Leptospires pathogènes qu'ils hébergent (prévalence, génotypes).

Ce travail a fait l'objet d'un rapport détaillé (Perez, Brescia et Goarant 2010) ; seuls les résultats synthétiques sont présentés ici.

Les quatre espèces de rongeurs décrites comme présentes en Nouvelle-Calédonie ont pu être capturées lors de deux campagnes (mars et septembre) d'échantillonnage. Les surmulots (*Rattus norvegicus*) n'ont été retrouvés qu'à la tribu de Bouirou, aucun n'étant capturé à Pothé.

Près d'un tiers (32%) des rongeurs capturés au cours de ces deux missions hébergeaient des Leptospires dans leurs reins. Il a ainsi été observé une prévalence de 33,7% en saison chaude (31 individus porteurs sur 92) et de 27,8% en saison fraîche (10 individus porteurs sur 36), suggérant que cette prévalence n'est pas influencée par la saison.

L'âge apparaît jouer un rôle prépondérant, puisque 41,4% des adultes sont porteurs de leptospires, alors que la prévalence observée est seulement de 19,3% chez les individus juvéniles. A l'opposé, celle-ci est indépendante du sexe, la prévalence étant identique chez les animaux des deux sexes.

Un portage rénal de leptospires est observé chez les rongeurs des 4 espèces identifiées. Cette prévalence apparaît un peu plus élevée chez les souris (*Mus musculus*) chez qui elle atteint 45,4% (15 individus sur 33). Toutefois, ces écarts ne sont pas significatifs.

Au niveau de l'espèce, les souris apparaissent infectées par *L. borgpetersenii*, les surmulots et un seul rat polynésien par *L. interrogans*. Les rats noirs hébergent l'une ou l'autre de ces deux espèces, *L. interrogans* étant toutefois majoritaire, infectant 75% des rats noirs porteurs. Les séquences *lfb1* de ces leptospires sont compatibles avec le portage de souches du sérogroupe Icterohaemorragieae chez les rats porteurs de

L. interrogans et de sérogroupe Ballum chez les individus (souris et 25% des rats noirs) porteurs de *L. borgpetersenii*.

Il apparaît notamment évident 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.

A l'occasion de prélèvements dans les abattoirs de l'OCEF (Paita et Bourail), nous avons caractérisé les prévalences et génotypes de Leptospires présents dans des reins de porcs charcutiers et de cerfs lors de l'abattage. Chez les porcs charcutiers, deux missions nous ont permis d'échantillonner 66 porcs, parmi lesquels 3 se sont avérés porteurs, tous 3 à des niveaux faibles, de Leptospires dans leur tissu rénal. Les séquences nucléiques sont compatibles avec un portage de souches de *L. interrogans* de sérogroupe *Icterohaemorragiae* ou *Pyrogenes*. Toutefois, notre échantillonnage ne représentait que des porcs charcutiers d'élevages professionnels, donc des animaux jeunes (6 mois et 100 kg) et bénéficiant d'un bon suivi sanitaire. Ces données ne peuvent à l'évidence pas être extrapolées à des élevages familiaux « d'arrière-cour », qui pourraient être porteurs à des niveaux et des prévalences plus élevés.

De la même façon, 40 cerfs ont été échantillonnés, parmi lesquels 14 étaient porteurs de Leptospires, identifiés comme appartenant à l'espèce *L. borgpetersenii* (N = 9) ou à l'espèce *L. interrogans*, de séquence compatible avec le sérogroupe *Icterohaemorragieae* ou *Pyrogenes* (N= 5). Parmi ces 14 cerfs porteurs, 4 étaient porteurs de concentrations rénales de Leptospires faibles. Les autres espèces de mammifères seront échantillonnées et étudiées de façon similaire prochainement.

Enfin, une étude de typage moléculaire par Multi Locus Sequence Typing (MLST) a été initiée sur les souches de la collection de l'IPNC, afin de conforter le polymorphisme de séquence observé sur le produit de la PCR diagnostique. Ces travaux feront l'objet d'une publication.

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

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence de Leptospires dans les liquides biologiques (culture - longue et très délicate - ou amplification génique par PCR depuis le sang, l'urine ou le LCR) ou par une séroconversion, 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. Au cours de l'évolution clinique, certains patients traversent de plus une phase dite « silencieuse » au cours de laquelle le germe ne peut pas être mis en évidence dans le sang, alors même que la sérologie est encore négative (cf. figure 1). L'OMS notamment souligne que le manque d'outils diagnostiques simples et transportables constitue un obstacle majeur à la bonne prise en charge de la leptospirose. Notre projet est de développer un test de diagnostic rapide, de type « bandelette », permettant la confirmation biologique d'une suspicion de leptospirose, utilisable sur sérum et/ou urine de patients, y compris en tout début de l'expression clinique de la maladie, par la détection immuno-chromatographique d'antigènes de Leptospires.

Les travaux, débutés en 2009 en collaboration avec l'Institut Pasteur de Paris, ont permis de produire plusieurs anticorps monoclonaux dirigés contre 2 antigènes des Leptospires pathogènes, ainsi que de commencer à constituer une collection de sérums et d'urines de patients.

La première cible antigénique choisie est une glycoprotéine de la membrane externe des Leptospires dont le rôle dans la virulence a été génétiquement démontré. Cette protéine est présente et exprimée *in vivo* chez toutes les souches pathogènes connues. Cette protéine a été exprimée en système recombinant afin de servir à immuniser des souris pour produire des anticorps monoclonaux. Plusieurs fusions ont été effectuées. Pour des raisons encore indéterminées, très peu d'anticorps monoclonaux ont pu être produits contre cette protéine. Les deux premiers anticorps monoclonaux produits sont en cours de caractérisation, d'abord sur des cultures de souches connues, puis sur des sérums de patients de collection. Les premiers résultats laissent entrevoir une sensibilité du test probablement insuffisante pour une utilisation en diagnostic sur bandelette. Des essais complémentaires sont en cours pour produire des anticorps en plus grand nombre et de meilleure affinité, en utilisant d'autres lignées de souris.

La seconde cible antigénique est le lipopolysaccharide (LPS), composant majeur de la paroi des Leptospires. Un LPS purifié d'une souche de sérogroupe Icterohaemorragiae (sérogroupe le plus fréquemment impliqué dans les cas humains) a été utilisé pour immuniser des souris. Sept anticorps monoclonaux ont pu être produits. Malheureusement, là encore, les essais préliminaires de caractérisation montrent une sensibilité probablement insuffisante. De plus, la moindre reconnaissance de LPS de souches hétérologues (appartenant à d'autres sérogroupes) nous a, là encore, incité à débuter d'autres séries d'immunisations.

4. 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 connaît 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 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, à un tarif et d'une accessibilité suffisants, d'un diagnostic de confirmation. Ainsi, certaines affections 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 nettement le pronostic pour le patient. Pour les gestionnaires de la santé publique, la reconnaissance de la présence de cette maladie 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.

Le but de notre projet est de développer, au sein de plusieurs instituts du RIIP dans des pays où la leptospirose pourrait être fortement sous-estimée des outils diagnostiques de cette maladie, d'évaluer la présence et l'importance de la leptospirose dans ces pays, par une étude de sa contribution à des syndromes cliniques de diagnostic différentiel complexe.

Pour parvenir à ces objectifs, notre projet regroupe les instituts membres du réseau International des Instituts Pasteur 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.

Il a débuté fin 2009, avec pour objectifs spécifiques :

1. D'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.
2. De documenter la présence de leptospirose humaine dans des pays où elle n'est pas, plus ou seulement très rarement envisagée.
3. De 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

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

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

1. CONTEXTE ET RAPPEL

L'aquaculture calédonienne s'est développée après l'introduction de la crevette bleue du Pacifique, *Litopenaeus stylirostris*, originaire d'Amérique Latine. Cette filière constituant la deuxième activité économique exportatrice du territoire, derrière l'industrie du nickel a connu un essor considérable, mais depuis quelques années doit faire face à deux pathologies saisonnières, dues à des bactéries du genre *Vibrio*. Ces pathologies s'expriment sous forme de flambées épidémiques et constituent un danger majeur menaçant 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 fin 1997, au cours de la saison chaude est apparue une seconde maladie induite par des souches hautement pathogènes de *Vibrio nigripulchritudo*. Face à ces pathologies, l'IFREMER a mis en place et initié un programme de recherche multidisciplinaire afin de comprendre les interactions hôte/environnement/pathogène menant à l'expression de ces vibrioses. Concernant *V. penaeicida* ces études antérieures avaient mis en évidence le rôle majeur dans la pathogénicité d'exotoxines exprimées lorsque ce vibrion est cultivé à basse température. Concernant *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.

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. Parallèlement, concernant *V. nigripulchritudo,* l'étude des facteurs de virulence des souches impliquées dans les phénomènes de mortalité de saison chaude est poursuivie en collaboration avec Frédérique Le Roux, chercheur IFREMER détachée à la Harvard Medical School à Boston, USA, travaillant sur le génome et la mutagénèse de *V. nigripulchritudo*.

L'objectif de ces programmes de recherche est de comprendre le déterminisme de la virulence chez ces espèces bactériennes, afin d'envisager des moyens de lutte applicables pour la filière.

2. PURIFICATION ET CARACTERISATION DES EXOTOXINES DE *V. PENAEICIDA* :

Dans un premier temps, les conditions de culture favorisant l'expression des exotoxines ont été précisées. Alors que l'effet de la température était déjà connu, un effet additionnel de la richesse du milieu de culture a été mis en évidence. Ainsi, des conditions de culture conduisant à une forte toxicité des surnageants de culture ont été définies, alliant une température basse (22°C) et un milieu riche (ZoBell 5X), contrairement à l'absence de toxicité des surnageants de culture en milieu pauvre (TSB salé) et à une température plus élevée (28°C).

En utilisant ces deux conditions de cultures, deux approches, l'une protéomique l'autre transcriptomique, ont été mises en œuvre afin de caractériser la (les) exotoxine(s) responsable(s) de la toxicité des produits extracellulaires de *V. penaeicida*.

2.1 APPROCHE PROTEOMIQUE : DE LA PROTEINE AU GENE…

Les exotoxines sont des protéines toxiques excrétées par les bactéries. Chez les *Vibrio* pathogènes d'aquaculture, la toxicité a souvent été associée à la sécrétion de protéases. Notre première hypothèse a donc été de rechercher la présence de protéases chez *V. penaeicida* et d'étudier leur éventuelle implication.

La comparaison des profils protéasiques (Zymogramme) des surnageants issus de ces deux conditions, ainsi que l'utilisation de différents inhibiteurs de protéases ne nous ont pas permis de corréler la présence d'une protéase particulière à la toxicité. Nous avons alors comparé les profils protéiques des surnageants toxiques ou peu toxiques, sur gels de SDS-PAGE colorés au nitrate d'argent ou au bleu de Coomassie. Ces travaux nous ont permis de suspecter trois protéines plus concentrées dans les surnageants toxiques, d'environ 35kDa, 55kDa et 72kDa. Celles-ci, après transfert sur membrane de PVDF ont été soumises à un séquençage N-terminal à la Plateforme d'Analyse et de Microséquençage des Protéines de l'Institut Pasteur de Paris. Par comparaison 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 donne 100% d'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. Cette protéine abondante de la paroi des *Vibrio* a été récemment décrite chez *V. splendidus* comme étant impliqué dans le processus de virulence pour

l'huître. Le séquençage N-terminal de la protéine ayant une taille apparente de 55kDa nous a permis d'identifier cette protéine comme étant vraisemblablement un ABC transporteur de sucres. Il s'agit d'une protéine transmembranaire et il apparait peu probable qu'elle soit un facteur de virulence. Enfin la séquence en acides aminés de la protéine ayant une taille de 72kDa donne une identité parfaite avec une protéine présente sur un plasmide de *V. nigripulchritudo*, impliqué dans la virulence.

Ainsi ces travaux sur l'approche protéique nous ont permis d'identifier deux protéines (porine OmpU d'environ 35kDa et 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 impliqués dans la virulence. Par une technique de PCR avec des amorces dégénérées et du séquençage, nous avons identifié le support génique de ces deux protéines de 35kDa et 72kDa.

2.2 APPROCHE TRANSCRIPTOMIQUE : DU GENE A LA PROTEINE…

Parallèlement, une étude transcriptomique compare les ARN de *V. penaeicida*, cultivé en condition de forte (Zobell 5X à 22°C) ou faible (TSB-NaCl à 28°C) expression des exotoxines. Généralement utilisée pour l'étude de polymorphisme de génomes, nous utilisons sur des cDNA générés depuis ces ARN une technique d'amplification arbitraire (RAPD : *Random Amplified Polymorphic DNA*) afin de déceler des transcrits différentiellement exprimés entre ces deux conditions de culture. Les fragments d'amplification différentiels obtenus sont en cours de clonage et séquençage.

3. ÉTUDE DES FACTEURS DE VIRULENCE DE *V. NIGRIPULCHRITUDO*

Les études menées précédemment sur *V. nigripulchritudo* ont permis d'identifier un plasmide (pSFn1) corrélé à la virulence et présent uniquement chez les souches hautement pathogènes. Le séquençage du génome complet d'une souche hautement pathogène de *V. nigripulchritudo* actuellement en cours au Génoscope à Paris a permis l'identification d'un second plasmide désigné pBig de 246kbp. Les travaux, menés avec la collaboration de F. Le Roux, chercheur IFREMER détachée à Harvard, consistent à étudier l'implication de ces deux plasmides dans la virulence de *V. nigripulchritudo,* par évaluation expérimentale de la virulence des différents mutants possédant 1,2, ou aucun des 2 plasmides. Ces infections expérimentales sur crevettes ont démontré que les deux plasmides pSFn1 et pBig sont nécessaires pour conférer à la souche le statut de virulence HP (hautement pathogène).

4. 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 afin de trouver des moyens de lutte adéquats pour la filière, nous avons travaillé au développement d'une technique d'expression génique sur ces 2 *Vibrio*, par une technique de RT-qPCR.

En effet, pour utiliser la PCR quantitative afin de réaliser l'étude de l'expression génique, la validation de plusieurs paramètres est préalablement requise. D'une part, la qualité et la pureté des ARN, sont des éléments clefs pour une analyse conforme d'expression génique par quantification des ARNm. D'autre part, afin de relativiser la quantification des transcrits d'ARNm le choix d'un gène de ménage pertinent, ayant une expression constitutive quelques soient les conditions expérimentales est indispensable.

Ainsi, cette mise au point a premièrement consisté à définir la technique d'extraction et de purification la mieux adaptée pour l'extraction d'ARN bactérien. Pour cela, nous avons testés en parallèle 4 techniques d'extraction (TRIzol Reagent (Invitrogen) suivi d'un traitement à la DNaseI, High Pure RNA Isolation (Roche), PAXgene Blood RNA System (PreAnalytiX), et enfin RNeasy Protect Bacteria (Qiagen) spécifiquement développé pour l'isolement d'ARN bactérien). Une étape de traitement à la DNase est incluse pour chacun de ces 3 kits commerciaux avec une application directe sur les colonnes d'extraction. La comparaison de ces 4 techniques d'extraction est basée sur des critères de qualité, de pureté et d'intégrité des ARN. Nous avons donc réalisé i) des dosages au Nanodrop, nous donnant la concentration des ARN extraits, et les rapports de pureté (260/280 et 260/230), ii) des gels agarose afin d'évaluer le degré de dégradation, iii) une amplification en qPCR avec des amorces 16S spécifiques, permettant d'évaluer la présence d'ADN génomique résiduel et enfin, iv) nous avons envoyé nos échantillons à la plateforme puces à ADN au Génopole à l'Institut Pasteur de Paris pour un dosage sur un Bioanalyseur 2100 Agilent (actuellement la technique la plus pointue pour qualifier la qualité et l'intégrité des ARN).

Deuxièmement, nous avons dû définir un gène de ménage ayant le minimum de variabilité en fonction des conditions expérimentales utilisées. Pour ce faire, nous avons évalué la stabilité des transcrits de quatre gènes de ménage candidats sous deux conditions expérimentales, afin de caractériser le gène de ménage optimal pour chacune des deux souches étudiées. Après une recherche bibliographique, nous avons sélectionné quatre gènes dont les séquences étaient disponibles pour ces deux espèces, le gène *rrs* codant pour l'ARNr 16S, les gènes *recA* et *gapA* déjà utilisés dans des études d'expression génique chez d'autres bactéries du genre *Vibrio* et enfin le gène *toxR* décrit comme étant exprimé constitutivement. La quantification absolue de ces 4 gènes sur les deux souches *V. penaeicida* et *V. nigripulchritudo* cultivés dans deux conditions expérimentales a été réalisée. Nous avons ainsi pu identifier pour chaque souche le gène ayant le moins de variabilité, à l'aide de deux programmes NormFinder et GeNorm spécifiquement développés pour mesurer les variations d'expression génique et couramment utilisés dans les études de validation de gènes de ménage.

Les résultats de ces travaux feront l'objet d'une publication.

LABORATOIRE DES BIOTOXINES

Responsable :
- Serge PAUILLAC, PhD, Chef d'unité

Doctorantes :
- Shilpa KUMAR-ROINE, Université de la Nouvelle-Calédonie (depuis Février 2006)
- Mariko MATSUI, Université de la Nouvelle-Calédonie (depuis Février 2007)

Collaborateurs régionaux :
- Dominique LAURENT (UMR 152, IRD Centre de Nouméa-Université Paul Sabatier Toulouse III)
- Mireille CHINAIN et Hélène T. DARIUS (Laboratoire des Micro-algues Toxiques, Institut Louis Malardé, Tahiti, Polynésie Française)

Collaborateurs nationaux :
- Jordi MOLGO et Evelyne BENOÎT (Institut de Neurobiologie Alfred Fessard, CNRS, Gif-sur-Yvette)
- Nicole Tandeau de MARSAC (Unité des Cyanobactéries, Institut Pasteur à Paris)

Collaborateurs étrangers :
- Richard LEWIS (Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, Brisbane, Australie)
- Stjepko GOLUBIC (Biological Science Center, Boston University, USA)

L'activité de ce laboratoire a cessé au 31 août 2009 avec la fin de séjour du responsable et le recentrage des thématiques de recherche de l'IPNC. Ce rapport reprend les principaux résultats récemment obtenus par le laboratoire et ses collaborateurs. Ceux-ci ont donné lieu à de nombreuses communications et publications. Deux doctorantes ont soutenu leur thèse fin 2009 et un brevet déposé.

La ciguatera est le terme qui désigne à la fois un phénomène écotoxicologique tropical touchant les écosystèmes coralliens et le syndrome clinique polymorphe qui en résulte. En raison de l'**impact environnemental et des incidences sanitaires, nutritionnelles et socio-économiques de la ciguatera** dans les pays insulaires tropicaux, les deux grands défis actuels pour les chercheurs sont : i) la mise au point d'une part, de tests de détection des poissons ciguatériques et d'autre part, de tests de diagnostic à l'usage des patients ; ii) la recherche d'antidotes spécifiques capables de neutraliser l'activité des ciguatoxines (CTXs). Nos recherches sont déclinées selon trois axes principaux :

1) étude du phénomène ciguatérique sur le plan moléculaire, notamment le mode d'action des CTXs dans un modèle murin;
2) application à l'étude de remèdes traditionnels utilisés dans le traitement de la ciguatera dans le Pacifique.
3) études environnementales, toxicologiques et chimiques d'algues, de cyanobactéries marines productrices de biotoxines.

1. ETUDE DES MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES DE LA CIGUATERA

Le mode d'action des CTXs sur les canaux ioniques (Na^+, K^+ et Ca^{2+}) sensibles au potentiel ne permet pas d'expliquer la diversité des symptômes ciguatériques. Utilisant un dosage chimique (réactif de Griess) et des techniques de biologie moléculaire (PCR quantitative ou qPCR), nous avons mis en évidence la surproduction de radical oxyde nitrique (NO•) lié à l'induction de l'enzyme responsable, l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) *in vitro* sur culture de macrophages murins RAW 264.7 (Kumar-Roiné *et al*., 2008), mais également *in vivo* sur souris OF1 (Pauillac *et al*, 2008).
Cette implication pourrait expliquer non seulement la diversité mais aussi la durée des symptômes observés chez les malades ciguatériques. En effet, aux bas niveaux physiologiques, le radical libre inorganique NO• sert de messager intra- ou inter-cellulaire pour, en particulier, déclencher certains mécanismes responsables de la vasorelaxation, la neurotransmission, ou la cytotoxicité. Il est cependant remarquable que de tels mécanismes soient à l'origine de certains symptômes comme l'hypotension, la bradycardie et le prurit observés au cours des intoxications ciguatériques ou de signes cliniques identifiables chez la souris (dyspnée, érection, démangeaisons…) ou encore de phénomènes provoqués *in vitro* sur des cellules cibles (gonflement des érythrocytes de grenouille, vasodilatation…). De plus, l'excès de NO a été associé à des manifestations neurotoxiques, en se combinant notamment avec d'autres radicaux libres oxygénés.

Enfin, l'implication de la iNOS pourrait également expliquer les fatigues chroniques et les phénomènes d'hypersensibilisation rencontrés dans le syndrome ciguatérique, symptômes qui n'étaient pas expliqués par la seule action des CTXs sur les canaux sodium sensibles au potentiel (Na_v).
Les preuves de l'implication de la iNOS nous ont naturellement conduit à étudier le rôle (jusqu'à présent négligé) des cytokines dans la physiopathologie de la ciguatera.
Utilisant le même modèle cellulaire avec la comparaison LPS/P-CTX-1B et la technique de qPCR, une surproduction des cytokines pro-inflammatoires étudiées (IL-1β, IL-6 et TNF-α) est observée tant avec le LPS qu'avec la P-CTX-1B. Il en est de même pour la cytokine anti-inflammatoire IL-10, toutefois avec des cinétiques différentes. En outre contrairement aux expériences conduites avec le LPS, la surproduction de l'ARNm de la cytokine hématopoiétique IL-11 n'est pas observée avec la P-CTX-1B (Matsui *et al*., *Toxicon* 2009).

Dans le but de mettre en évidence une corrélation entre pouvoir toxique et activité inflammatoire, les effets de 2 autres toxines moins puissantes, la P-CTX-3C commune à tous les étages trophiques et la PbTx-3 membre de la famille des brévétoxines, présentant toutes deux des analogies structurales et pharmacologiques avec les CTXs ont été comparés à ceux de la P-CTX-1B. Même à des concentrations très élevées, ces deux toxines n''ont pas induit la synthèse d'iNOS et ni de cytokines inflammatoires, mettant en évidence la liaison toxicité-potentiel inflammatoire de ce groupe de neurotoxines de type polyéther (Matsui *et al*., *Toxicon* 2009).

2. ETUDE DE PLANTES MEDICINALES A ACTIVITE ANTI-CIGUATERIQUE DU PACIFIQUE

Sur 94 extraits aqueux de plantes médicinales utilisées par les populations du Pacifique comme remèdes anti-ciguatera, 28 ont été sélectionnées sur la base de leur aptitude à prévenir l'effet cytotoxique induit par la PbTx-3 ou la P-CTX-1B sur les cellules Neuro-2a (Boydron Le Garrec *et al.*, *Toxicon* 2005). Parmi elles, 9 plantes ont été sélectionnées sur leur base de leur propriété inhibitrice spécifique de l'iNOS ou de piégeurs de radicaux libres parallèlement à la recherche d'une activité anti-oxydante (Kumar-Roiné *et al*., *J. Ethnopharmacol*. 2009).

Les plantes ont toutes été collectées sur les régions côtières de Nouvelle-Calédonie et les extraits aqueux correspondants ont été préparés suivant les recettes fournies par les tradipraticiens (ébullition dans l'eau ou simple infusion dans de l'eau chaude ou froide des écorces ou des feuilles). Après filtration et lyophilisation, les extraits ont été pesés et redissous dans l'eau pour être analysés comme décrit ci-dessous.

2.1 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

Compte tenu de la rareté de la P-CTX-1B, le criblage de l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux de plantes médicinales (250 µg/mL) a été effectué sur le modèle « cellules RAW 264.7 stimulées au LPS ». La cinétique de production des médiateurs de l'inflammation a pu être conduite en parallèle au niveau de l'ARNm par qPCR (cellules traitées ou non et amorces spécifiques: IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α, iNOS) et au niveau des protéines elles-mêmes par ELISA (surnageants cellulaires correspondants et kit de chez R & D System: IL-6, IL-10, TNF-α).

De par leurs nombreuses activités bénéfiques, deux plantes, *Vitex trifolia* L. (Lamiaceae) et *Heliotropium foertherianum* (Boraginaceae) ont été particulièrement étudiées par la suite. Les résultats obtenus avec *V. trifolia* ont été récemment publiés (Matsui *et al*., *J. Ethnopharmacol*. 2010). Cet extrait aqueux a montré une activité inhibitrice dose et temps-dépendante sur l'expression des ARNm de l'IL-1β, l'IL-6 et l'iNOS, mais un effet plus modéré sur le TNF-α. De plus l'extrait semble stimuler la production d'IL-10 induite par le LPS. Ces résultats de qPCR ont été confirmés par un dosage ELISA utilisant des anticorps spécifiques de l'IL-6, l'IL-10 et le TNF-α. murins. L'activité anti-inflammatoire de *V. trifolia* pourrait expliquer son utilisation comme remède traditionnel contre la ciguatera et met l'accent sur son potentiel thérapeutique à l'égard d'autres maladies inflammatoires.

2.2 FRACTIONNEMENT CHIMIQUE BIOGUIDE

Tenant compte de l'ensemble de leurs activités bénéfiques, 3 plantes (*Euphorbia hirta*, *V. trifolia* et *H. foertherianum*) ont subi un criblage de leurs différents composés au moyen d'un fractionnement chimique bioguidé basé sur la capacité inhibitrice à l'égard de la surproduction de NO induite par le LPS dans les cellules RAW 264.7. Les fractions actives issues de différentes techniques chromatographique ont été analysées à Toulouse (UMR-152 IRD-Université de Toulouse) par HPLC couplée à une détection par spectrométrie RMN ou de masse. Le principal composé isolé (en terme pondéral) des fractions actives a été testé quant à sa capacité à inhiber la surproduction de radical NO induite par le LPS et à déplacer la [^{3}H]- PbTx-3 de son site récepteur sur le Na_v. Dans les 3 cas il s'agissait de composés connus et disponibles commercialement : la quercitrine, l'agnuside et l'acide rosmarinique.

Les résultats très prometteurs obtenus avec l'acide rosmarinique (seul actif dans le test avec radioligand) ont été d'ores et déjà valorisés par le **dépôt d'un brevet N° 09/03781 auprès de l'INPI en juillet 2009**.

3. ETUDES ECOTOXICOLOGIQUES

Les études récentes menées ces dernières années en collaboration notamment avec l'IRD de Nouméa (à l'origine de l'étude) et l'ILM de Tahiti, sur l'île de Lifou (île des Loyautés de Nouvelle-Calédonie) et l'île de Raivavae (Archipel des Australes en Polynésie française) ont montré, dans des régions très fortement touchées par le phénomène écotoxicologique de la ciguatera, que des cyanobactéries marines benthiques de l'ordre des Oscillatoriales *(Hydrocoleum*, *Oscillatoria*) pouvaient produire des toxines liposolubles proches des CTXs, associées à des toxines hydrosolubles paralysantes de type saxitoxine (STXs) ou neurotoxines telles que l'anatoxine-a (ANTX) et l'homoanatoxine-a (HANTX).

Ces toxines sont ensuite susceptibles de s'accumuler dans les mollusques filtreurs avoisinants comme les bénitiers, provoquant chez leurs consommateurs en Nouvelle Calédonie et en Polynésie française, des symptômes comparables à ceux provoqués par la consommation de poissons ciguatériques mais beaucoup plus sévères. Ces mollusques, très consommés et cultivés dans le Pacifique, pourraient donc constituer un nouveau maillon de la chaîne alimentaire ciguaterique. Alors que les CTXs sont connues pour être produites par des microalgues de l'ordre des dinoflagellés (*Gambierdiscus spp.*), les STXs le sont aussi bien par des dinoflagellés marins que des cyanobactéries dulçaquicoles planctoniques, et les ANTX et HANTX par des cyanobactéries dulçaquicoles planctoniques et benthiques.

La toxicité des ANTX, HANTX et STXs provoque de sévères paralysies notamment des muscles respiratoires. Ces toxines paralysantes et neurotoxines, qui n'avaient jusqu'alors jamais été détectées dans des cyanobactéries marines, ni mises en cause dans des intoxications humaines, devraient être considérées de par leur haute toxicité comme une source potentielle de risques sanitaires pour la consommation des produits de la mer.

La première étude de notre groupe sur les échantillons prélevés à Lifou (Laurent *et al*., *Harmful Algae* 2008) avait nécessité la compétence de plusieurs collaborateurs français (Institut Pasteur de Paris, CNRS, ENSCP, INSERM, Ecole Polytechnique, AFSSA) et étrangers (Université de Boston, Université du Qeensland, Australian Institute of Medical Sciences). Elle apportait de nouvelles preuves scientifiques (test de toxicité aigüe et méthodes neuropharmacologiques uniquement) sur la présence de cyanotoxines dans nos échantillons biologiques (extraits de cyanobactéries, de bénitiers et de poissons herbivores) et soulignait la pertinence des premières observations de la cyanobactérie benthique *Lyngbya majuscula* dans les viscères de nombreux poissons toxiques (Halstead, 1967). A Lifou, la cyanobactérie benthique incriminée a été identifiée comme étant *Hydrocoleum lyngbiaceum* (Laurent *et al*., *Harmful Algae* 2008), tandis qu'à Raivavae la biomasse de cyanobactéries benthiques étaient essentiellement constituée *de Oscillatoria cf. bonnemaisonii* (Golubic *et al*. *Toxicon 2009 ;* Chinain *et al.*, *Toxicon 2009*).

Sur le plan de la caractérisation chimique des cyanotoxines hydrosolubles de Lifou, les premières études n'avaient pas permis de mettre en évidence par HPLC couplée à la fluorimétrie la présence de STX et de ses dérivés connus. Il s'agirait donc de nouveaux composés de type STX mais non dérivatisables. Nous n'avons pas réussi à élucider la structure des composés isolés des fractions liposolubles. Ccependant, leur polarité, leur PM autour de 1000 Da et leur activité pharmacologique les classent parmi les composés de type CTXs.

Par contre, récemment la présence de HANTX dans des extraits à la fois de cyanobactéries et de bénitiers de Lifou a été formellement mise en évidence par GC/MS (Méjean *et al*., *Toxicon 2009*).

Le développement futur de ces recherches est prévu dans le cadre du programme ARISTOCYA financé par l'ANR avec des prélèvements *in natura* dans le Pacifique et l'Océan Indien.

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

Responsable :
- S. Mermond, médecin-biologiste

Collaborateurs LEM :
- M. Dupont-Rouzeyrol, chercheur microbiologiste
- O. O'Connor, VCAT/ technicienne de recherche
- V. Zurawski, interne en biologie

Collaborateurs externes :
- V-M. Cao-Lormeau, chercheur virologiste, Institut Louis Malardé, Tahiti
- J. Aaskov, WHO Collaborating Centre for Arbovirus Reference and Research, Australie
- M. Grandadam, CNR Arbovirus, Paris

- A. Pfannstiel, DASS-NC
- E Descloux, CHT
- M. Mangeas, C. Menkes IRD Nouméa
- T. Tehei, A. Leroy, Météo-France Nouméa
- N. Selmaoui, UNC

- I. Missotte, Service de Pédiatrie, 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. Guézennec, 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, A-C. Gourinat, M. Grandadam, J. Aaskov et 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) 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.

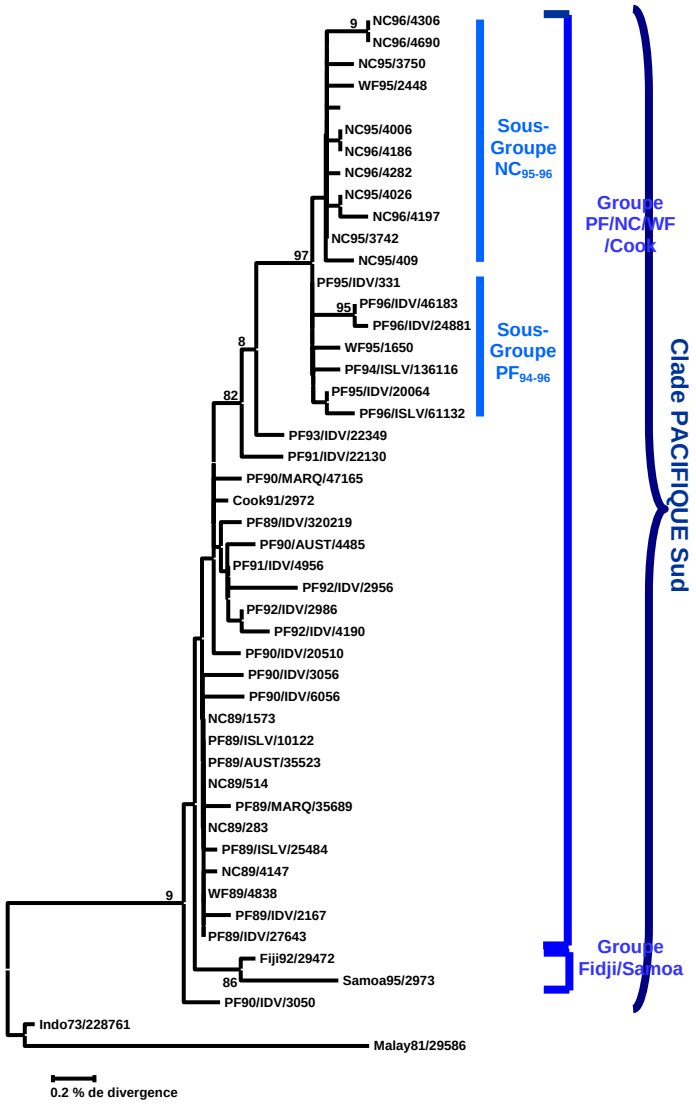
L'agent étiologique de la dengue est un virus à ARN de la famille des *Flaviviridae* transmis par des moustiques du genre *Aedes*, principalement *Ae aegypti,* mais également *Ae albopictus* et des vecteurs endémiques tels qu'*Ae polynesiensis*. Il existe quatre sérotypes de dengue (DEN1, DEN2, DEN3 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 par diverses formes cliniques allant de la fièvre de dengue 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 et a ré-émergé 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 2001-2002 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 ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX



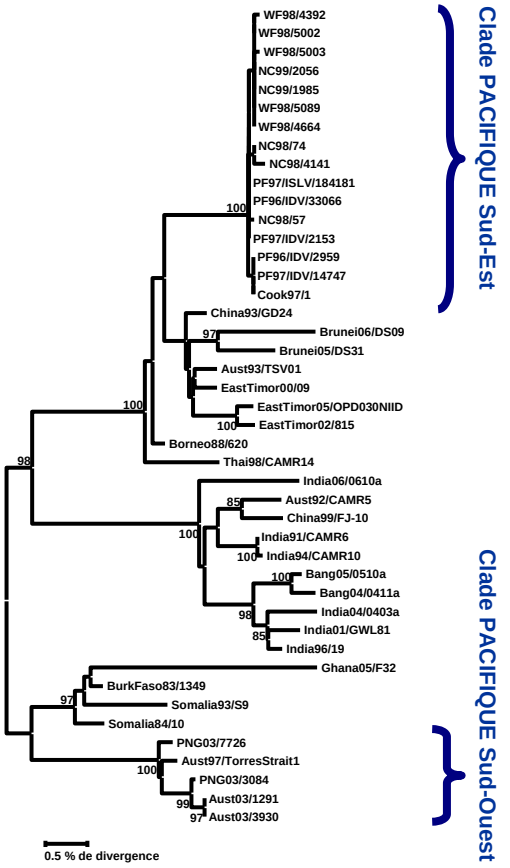
Les valeurs de bootstrap > 80% sont mentionnées aux embranchements

Figure 1 : Arbre phylogénétique basé sur le gène E complet (1479 pb) de souches de DEN3 du génotype I (*source I L Malardé*)

Les sérums des patients diagnostiqués positifs en Dengue des précédentes épidémies de Nouvelle-Calédonie et de Wallis et Futuna ont été sélectionnés. Ces sérums ont été inoculés sur des cellules Vero pour favoriser une réplication du virus. A partir des surnageants de culture, l'ARN viral a été extrait et amplifié par RT-PCR. Le gène E (codant pour l'enveloppe du virus de la Dengue) a été séquencé et l'analyse phylogénétique réalisés à l'ILM. Les souches virales déjà analysées correspondent aux souches des épidémies de DEN3 de 1989-1990 et 1995-1996, et de DEN2 de 1998-1999.

L'analyse phylogénétique des souches de DEN3 (1989-1996) provenant des Etats Insulaires du Pacifique Sud (EIP) montre que toutes les souches appartiennent au génotype I et se regroupent au sein du clade Pacifique Sud (Figure 1). L'arbre phylogénétique suggère une origine Sud-Est asiatique pour ces souches. Au sein du clade Pacifique Sud, deux sous-groupes émergent : Fidji/Samoa et NC/PF/WF/Cook qui partagent un ancêtre commun avec la souche $PF_{90/IDV/3050}$. Ce résultat suggère l'introduction de deux éléments distincts en Polynésie Française en 1989-1990, évènements qui ont ensuite évolués indépendamment. Au sein du groupe NC/PF/WF/Cook, les souches des épidémies de 1995-1996 se répartissent en deux sous-groupes géographiques NC_{95-96} et PF_{94-96}, suggérant une évolution distincte des souches virales.

Concernant l'épidémie de DEN2, 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 valeurs de bootstrap > 80% sont mentionnées aux embranchements

Figure 1 : Arbre phylogénétique basé sur le gène E complet (1485 pb) de souches de DEN2 du génotype Cosmopolitain (*source IL Malardé*)

Les analyses phylogénétiques de souches de DEN2 et DEN3 montrent que sur la même période plusieurs introductions virales ont eu lieu dans le Pacifique Sud, mais seules certaines se sont maintenues. Ces souches forment plusieurs groupes qui sont distincts géographiquement et temporellement. L'analyse génétique du gène E montre l'apparition de mutations qui sont spécifiques de régions ou groupe de régions. Ces mutations pourraient apporter un avantage sélectif au virus fonction de l'environnement de transmission. Ces observations attestent de l'importance du contexte géographique sur l'évolution des virus de Dengue.
Concernant les souches de dengue d'épidémies plus récentes, l'ILM et l'IPNC ont sélectionné ensemble plus d'une centaine de souches de DEN1 (2002-2009). Les ARN viraux sont en cours d'extraction et le gène E en cours de séquençage. Une fois les séquences obtenues, un alignement pourra être fait entre les souches d'une

même épidémie. Ces alignements permettront de suivre l'évolution génétique du virus et de comparer les profils d'évolution de l'épidémie entre la Nouvelle-Calédonie et la Polynésie Française, et les profils de séquences confrontés aux facteurs biologiques (dengue sévère ou classique), environnementaux et épidémiologiques.

Enfin, un travail a été réalisé sur la mise au point d'un protocole d'extraction d'ARN viral à partir de buvards imprégnés de sang de patient infecté ou de surnageant de cultures cellulaires inoculées. Cette étude a été réalisée afin de faciliter les échanges de souches virales de dengue provenant de sang humain ou de surnageant de culture cellulaire entre les différents partenaires. En effet, l'acheminement de souches virales vivantes par voie aérienne est contraignant et onéreux (transport sous carboglace), parce que soumis à la réglementation du transport des matières dangereuses, ce qui n'est pas le cas du sang séché sur buvards qui n'est pas soumis aux mêmes obligations. Ainsi les buvards imprégnés ont été expédiés à température ambiante. Un protocole d'extraction d'ARN viral a été mis au point et les génomes viraux ont été amplifiés par RT-PCR conventionnelle ou en temps réel (Taqman). Pour certains échantillons, le gène E a été séquencé.

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. OPTIMISATION DE LA PLATEFORME TECHNIQUE DENGUE

M. Dupont-Rouzeyrol, O. O'Connor, A. Guigon, A-C Gourinat, M. Grandadam.

En 2009, la co-circulation des sérotypes de virus DEN 1 et 4 a engendré une épidémie importante avec 7296 cas confirmés. Afin d'améliorer la rapidité du rendu des résultats, une RT-PCR en temps réel a été transférée avec succès à l'IPNC avec l'aide du CNR des Arbovirus de l'Institut Pasteur Paris. En comparaison à la RT-PCR classique qui nécessite un délai de 8h pour analyser 32 patients, cette nouvelle méthode peut en 3h traiter 94 sérums.

La validation de la méthode sur notre automate LC 480, Roche Diagnostics™ a été réalisée sur 125 échantillons présentant des charges virales différentes. Les résultats obtenus montrent une bonne corrélation entre les deux techniques de PCR. La sensibilité de la RT-PCR en temps réel a été de 92% par rapport à la PCR classique. Les faux-négatifs (8%) étaient des échantillons pour lesquels la PCR classique était faiblement positive. Celle-ci est une double PCR avec 15 µl de sérum, tandis que la PCR en temps réel est une PCR unique avec seulement 4 µl de sérum. Ceci peut expliquer la différence de sensibilité entre les deux méthodes.

Par ailleurs, un contrôle interne d'amplification, ciblant un gène de ménage humain (GADPH) a été mis en place et validé. Cette nouvelle méthode est dorénavant applicable en diagnostic de routine. En cas de nouvelle épidémie, la capacité du laboratoire est renforcée avec le maintien d'un coût équivalent à la technique actuelle.

3. PREVENTION ET PREVISION DES EPIDEMIES DE DENGUE EN NOUVELLE-CALEDONIE

A-C Gourinat, A Pfannstiel, L Guillaumot, M Dupont-Roureyrol, E Descloux, T Tehei, A Leroy, N Selmaoui, C Menkes, M Mangeas.

L'IRD (Morgan Mangeas) est le coordonnateur de ce projet, partiellement financé par le Ministère de l'Outre-mer (2009).

Ce projet a pour objectif principal la définition d'indicateurs de prédiction des risques d'épidémies de dengue, utiles aux pouvoirs publics dans la préparation à la lutte contre cette maladie afin de mieux dimensionner les moyens à mettre en œuvre. Jusqu'à présent, la surveillance de la dengue en Nouvelle-Calédonie est basée sur un réseau sentinelle de cliniciens publics et privés et sur un suivi entomologique mensuel basé sur un indice simple, plus ou moins empirique et non spatialisé. Il s'agit d'affiner cet indice entomologique, de le rendre

temporellement dynamique et de le spatialiser ; puis d'utiliser les capacités prédictives météorologiques à courte et moyenne échéance pour prévoir le risque de dengue. Connaître l'influence des changements climatiques sur l'évolution de la dengue permettrait aussi d'organiser la politique de prévention à plus long terme.

Plus précisément, les évènements ayant contribué aux dernières épidémies (années 2003, 2008 et 2009) seront étudiés. Ces travaux s'appuieront sur les nombreuses informations spatialisées (météorologie, indicateurs de présence de larves de moustiques, cas de dengue, occupation du sol, présence de points d'eau, végétation…) et la modélisation des interactions entre les facteurs environnementaux et la dynamique d'une épidémie de dengue. Un indicateur de risque épidémique spatialisé sera mis au point. Il permettra de mieux comprendre l'influence des phénomènes météorologiques (saisonniers ou type ENSO) et climatiques sur l'apparition et l'extension des épidémies de Dengue en Nouvelle-Calédonie.

Depuis le dépôt du projet, la zone de l'étude a été élargie à un cadre régional (îles du Pacifique Sud) grâce aux données récoltées par la CPS. La dynamique engendrée par ce projet pourrait permettre de constituer un consortium de recherche pour élaborer un projet plus ambitieux à soumettre à d'autres bailleurs de fonds.

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

S Mermond, V Zurawsky, I Misotte, M Dupont-Rouzeyrol, O O'Connor, Chevalier C, Debarnot V, Besson-Léaud L, Moïsi J, O O'Connor, O Levine, A Deluca, A Driscoll, AM Knoll, D Murdoch.

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, MassTag PCR).

2. ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX

L'année 2009 a vu la mise en place des protocoles d'accord entre les institutions participant à ce projet (Institut Pasteur de Paris en tant que promoteur, l'Université JHSPH et l'IPNC).

Le protocole d'étude a été rédigé et approuvé par le comité scientifique de l'Institut Pasteur de Paris et les différents comités d'éthiques institutionnels ou nationaux (AFSSAPS, Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre-mer III à Bordeaux, IRB de l'Institut Pasteur de Paris et IRB de l'université JHSPH).

La formation des différents acteurs impliqués dans le projet a été largement initiée : formation à l'éthique des investigateurs et co-investigateurs, information des équipes soignantes.

Sur le plan technique, l'année 2009 a également permis :

- la mise en place des procédures pour la gestion des prélèvements et des analyses au laboratoire,

- le transfert et la validation de nouvelles techniques (PCR multiplex, PCR en temps réel pour la détection de *Bordetella pertussis*).

3. PERSPECTIVES

Les premières inclusions ont débuté au mois de janvier 2010. L'étude est prévue pour durer 1 an afin d'inclure un nombre suffisant de patients et de couvrir les variations saisonnières.

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

J. Guézennec, C. Simon-Colin, M. Dupont-Rouzeyrol, Y. Labreuche, S. Chanteau, L. Loubersc

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 sera signée entre l'Ifremer (Brest/Nouméa) et l'Institut Pasteur (Paris/Nouméa).
Le milieu marin constitue la plus grande partie de la biosphère et contient les formes les plus anciennes et les plus variées de la vie. Cette diversité de vie et d'environnement (zones hydrothermales, sédiments des fonds sous-marins, les lagunes hyper salines…) est une vaste ressource largement inexploitée dont les applications potentielles pourraient être multiples dans de nombreux secteurs : développement de nouvelles molécules bioactives et métabolites secondaires, d'enzymes, de bio-polymères.

Les microorganismes ont été longtemps ignorés d'une démarche de criblage en biotechnologies marines et ce principalement pour des raisons techniques. Cette ressource inexploitée et peu connue à ce jour pourrait s'avérer être le principal gisement de nouvelles molécules d'intérêt biotechnologique des prochaines décennies. De fait, on peut donc considérer que l'un des enjeux majeurs de la recherche en matière de biotechnologie marine et plus spécifiquement au niveau des microorganismes, porte aussi sur le développement de méthodes d'identification, de caractérisation et d'analyse de la fraction incultivable. En effet, les techniques classiques de biologie telles que les mises en culture sur milieux à caractère plus ou moins sélectif ne permettaient d'accéder qu'à 0,1% - 1% des espèces microbiennes présentes dans les écosystèmes marins.

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. Les applications des biopolymères sont diverses : protection de l'environnement (bio-remédiation, bio-détoxification de métaux lourds, traitement des écosystèmes contaminés…), diminution des ressources fossiles (substitutifs à un ensemble de polymères d'origine pétrochimique comme les colles et adhésifs), cosmétique… Enfin, il convient de ne pas oublier le secteur de la santé où deux axes majeurs se dégagent : la recherche de métabolites secondaires bioactifs avec applications dans les domaines de l'oncologie, du traitement des maladies neurodégénératives et le développement des biomatériaux.

2. ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX

La première mission de prospection et de collection aura lieu en avril 2010 dans des sites sélectionnés : estuaires de la Koné, de la Pouembout, de la Tamoa, plaine salée de Boulouparis, platier corallien de l'ilot Redika.

3. PERSPECTIVES

A partir de cette collection, il sera procédé à la recherche de biopolymères dont les applications se situent à la fois dans le court terme (cosmétologie, environnement..), ou dans le plus long terme (santé). Ces applications sont de nature à favoriser le développement d'activités nouvelles en Nouvelle-Calédonie tant au niveau de la R&D que de la production de ces biomolécules.

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE

FACTEURS DE RISQUE DU MESOTHELIOME EN NOUVELLE-CALEDONIE, DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES ET GEOLOGIQUES

Responsable :
- Francine BAUMANN, épidémiologiste

Collaborateurs externes :
- Pierre MAURIZOT, géologue au BRGM-NC,
- Bernard ROBINEAU, géologue à l'IRD, directeur du Centre National de Recherche sur le Nickel et son Environnement
- Jean François Viel, éco-épidémiologiste, UMR CNRS 6249 « Chrono-Environnement », Besançon.
- Jean-Paul AMBROSI, géochimiste de l'environnement, CNRS-IRD

Financements : Gouvernement Nouvelle-Calédonie, Secrétariat d'Etat pour l'Outre-mer, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

Le mésothéliome pleural est une tumeur maligne rare de la plèvre dont la survie médiane est de 11 mois ; l'origine est le plus souvent professionnelle, imputable à l'amiante utilisée dans l'industrie. En Nouvelle-Calédonie, cinq à six nouveaux cas de mésothéliome confirmés par l'histologie sont enregistrés en moyenne chaque année. Des travaux de l'unité 88 de l'INSERM durant la période 1993-1995 révélaient qu'une pratique mélanésienne consistant à revêtir les murs des habitations d'un enduit appelé « Pö », fabriqué à partir d'une roche composée de trémolite, était fortement associée au risque de mésothéliome.

Cependant l'utilisation du Pö n'est probablement pas la seule source d'exposition à la trémolite. Afin de mieux cerner l'origine environnementale des mésothéliomes, une étude cas-témoins a été réalisée sur tous les mésothéliomes confirmés histologiquement, enregistrés de 1984 à 2002. L'incidence standardisée élevée et équivalente chez les femmes comme chez les hommes et la répartition égale dans toutes les classes d'âge à partir de 30 ans indiquent une exposition environnementale à l'amiante dès l'enfance.

Ce projet a donc pour objectif de mieux cerner les facteurs de risque environnementaux de l'exposition à l'amiante, afin d'envisager une meilleure gestion du risque. Le rapport 2008 indique les différentes étapes de ce projet.

Le programme s'est poursuivi en 2009 au niveau de l'IPNC par des enquêtes épidémiologiques sur le terrain dans la région de Houailou, Poindimié, Touho, Hienghène, Koné, Poya et Bourail. Les résultats des analyses seront disponibles en 2010.

AUTRES ACTIVITES

FORMATION DU PERSONNEL IPNC 96

FORMATION ET ENSEIGNEMENT DISPENSES PAR L'IPNC 97

DIFFUSION DES CONNAISSANCES 98

COLLOQUES, CONGRES, ATELIERS SCIENTIFIQUES 102

FORMATION DU PERSONNEL IPNC

1. FORMATION A L'EXTERIEUR DE LA NOUVELLE CALEDONIE

- Tourancheau S. Formation sur automate d'hématologie ABBOT, Melbourne, Australie, 3-6 mars 09.
- Urbes F. Cours sur les analyses microbiologiques des Viandes & produits carnés . Institut Pasteur de Lille (France). 08-19 juin 09.
- Hemelsdael E. Mycologie médicale : dermatophytes, moisissures & levures. Biomérieux (France). 7-9 oct.
- Moux C. Formation pratique sur le diagnostic des virus respiratoires et le laboratoire P3. Institut Pasteur du Cambodge Phnom-Penh. 05-16 oct. 09.
- Matsui M. Cours d'immunologie générale. Institut Pasteur de Hong Kong/Université de Hong Kong. 17 nov. - 05 déc. 09.
- Mermond S. Formation au sérotypage du pneumocoque par la méthode de gonflement capsulaire (réaction de Quellung). Pneumococcal Reference Lab. Centre for Infectious Diseases & Microbiology, Hôpital Westmead. Sydney (Australie). 08-12 mai 09.

2. FORMATION A NOUMEA

2.1 FORMATION INTERNE

- Goarant C. « La leptospirose, quoi de neuf à l'IPNC ? » 12 et 14 mai 09.
- Goarant C. « Mise en place de la PCR grippe porcine à l'IPNC ». 04 juin 09.
- Roquigny N. "Comment les champignons médicaux deviennent myco-*logiques*". 30 juin et 02 juillet 09.
- Moux C. Présentation du laboratoire P3. 06 nov. 09

2.2 FORMATION PROFESSIONNELLE CONTINUE, CHSCT, QUALITE

CHSCT
- CHSCT (Vitavi): 4 agents
- chargé sécurité & prévention (J.Y. Menny) : V. Collin, référente CHSCT
- sécurité incendie (J.Y. Menny): V. Collin, référente CHSCT
- recyclage sauveteurs secouristes du travail (J.Y. Menny) : 5 agents
- lutte contre le feu (J.Y. Menny): 15 agents
- guides, serre-files, évacuation incendie (J.Y. Menny): tout le personnel
- conduite des autoclaves (Véritas): 5 agents

Démarche qualité, par le GRIEPS
- sensibilisation : tout le personnel
- Formalisation d'une politique qualité & organisation de l'auto-évaluation : le comité pilotage
- Formation à l'auto-évaluation : le comité de pilotage
- Formation à l'audit : la responsable assurance qualité (J. Tuaiva)

Animation qualité, par AC2F NC : 7 agents

Informatique : SYSCOM (F. Rouchon)

Biologie médicale par internet : R. Goursaud, S. Mermond, A.C. Gourinat, S. Tourancheau

Doctorat Epidémiologie, Université Nouvelle-Calédonie (3è année) : F. Baumann

Gestion ressources humaines par CCI : management d'équipe (C. Goarant), situation de conflit (N. Paprocki)

Géomatique (IRD) : F. Baumann

Institut de la Qualité : devenir auditeur interne (J. Tuaiva)

Cours d'anglais (2 niveaux) : 17 agents

FORMATION ET ENSEIGNEMENT DISPENSES PAR L'IPNC

1. FORMATION

1.1 ACCUEIL D'INTERNES EN BIOLOGIE MEDICALE, DE VOLONTAIRES A L'ASSISTANCE TECHNIQUE

- RIVOIRE Nathalie, Interne en Bactériologie. 1er novembre 2009 au 31 octobre 2010.
- ZURAWSKI V. Interne en sérologie-hématologie. Novembre 2009 à mai 2010.
- MAGNAT Elodie, VCAT, laboratoire d'épidémiologie. 1er janvier au 31 décembre 09.
- O'CONNOR Olivia, VCAT, laboratoire d'épidémiologie moléculaire. 1er décembre 09 au 31 décembre 2009.
- PEREZ Julie, VCAT, laboratoire de recherche en bactériologie. 1er janvier au 31 décembre 09.
- VIC Marlène, VCAT Ifremer détachée au laboratoire de recherche en bactériologie, 1er janvier au 31 décembre 09.

1.2 ACCUEIL DE STAGIAIRES

Au total, l'IPNC a accueilli 15 stagiaires du niveau lycée, 1er et 2è cycle universitaire dans les différents laboratoires de biologie médicale, LHE et recherches.

Le laboratoire d'entomologie médicale a formé 23 agents municipaux (Nouméa, Dumbéa, Mont-Dore) à la lutte anti-vectorielle.

DIFFUSION DES CONNAISSANCES

1. PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES DANS DES JOURNAUX A COMITE DE LECTURE

1. Goarant C, Laumond-Barny S, Perez J, Vernel-Pauillac F, Chanteau S, Guigon A. Outbreak of leptospirosis in New Caledonia: diagnosis issues and burden of disease. *Trop Med Int Health*. 2009 Aug;14(8):926-9.
2. Vernel-Pauillac F, Hogan TR, Tapsall JW, Goarant C. Quinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: rapid genotyping of quinolone resistance-determining regions in gyrA and parC genes by melting curve analysis predicts susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Mar;53(3):1264-7.
3. Ko A, Goarant C, Picardeau M. Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2009 Oct;7 (10):736-47.
4. M. Matsui, S. Kumar-Roiné, H. T. Darius, M. Chinain, D. Laurent, S. Pauillac, Characterisation of the anti-inflammatory potential of *Vitex trifolia* L. (Labiatae), a multipurpose plant of the Pacific traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology.* 2009 Dec 10;126(3):427-33.
5. S. Kumar-Roiné, M. Matsui, K. Reybier, T. H. Darius, M. Chinain, D. Laurent, S. Pauillac. Ability of certain plant extracts traditionally used to treat ciguatera fish poisoning to inhibit nitric oxide production in RAW264.7 macrophages, *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 123: 369–377.
6. C Hurt, J. Ernest, YM Deng, P. Iannello, T. Besselaar, C. Birch, P. Buchy, M. Chittaganpitch, C Shu-Chun, D. Dwyer, A. Guigon, B. Harrower, I. Peng Kei, T. Kok, C. Lin, K. McPhee, A. Mohd, R. Olveda, T. Panayotou, L. Scott, D. Smith, L. Smith, W. Rawlinson, N. Komadina, R. Shaw, A. Kelso, IG Barr. Emergence and spread of oseltamivir-resistant A(H1N1) influenza viruses in Oceania and South East Asia and South Africa. *Antiviral Research*. 2009 Jul;83(1):90-3.
7. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes E. B. (2009). Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *New England Journal of Medicine* 360 ; 2536-2543
8. Moodley Y, Linz B, Yamaoka Y, Windsor HM, Breurec S, Wu JY, Maady A, Bernhöft S, Thiberge JM, Phuanukoonnon S, Jobb G, Siba P, Graham DY, Marshall BJ, Achtman M. The peopling of the Pacific from a bacterial perspective. *Science*, 2009 Jan 23;323(5913):527-30.
9. Vernel-Pauillac, F., Goarant, C. Differential cytokine gene expression according to outcome in a hamster model of leptospirosis. *PLoS neglected tropical diseases*. (Sous presse)
10. 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*. (Sous presse)
11. Berlioz-Arthaud, A., Guillard, B., Goarant, C., Hem, S. Hospital based active surveillance of human leptospirosis in Cambodia. *Bull Soc Pathol Exot*. (Sous presse)
12. Mermond S, Berlioz-Arthaud A, Estivals M, Levenes H, Baumann F, Martin P. Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized adult patients in New Caledonia. *Trop Med Int Health.* (Sous presse)
13. Li DS, Liu W, Guigon A, Mostyn C, Grant R, Aaskov J. Rapid displacement of dengue virus type 1 by type 4, Pacific region, 2007-2009. *Emerg Infect Dis*. (Sous presse)
14. 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.* (Sous presse)
15. 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*. (Sous presse)
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*. (Sous presse)
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*. (Sous presse)

18. Golubic S, Abed RM, Palińska K, Pauillac S, Chinain M, Laurent D. Marine toxic cyanobacteria: diversity, environmental responses and hazards. *Toxicon*. (Sous presse)

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*. (Sous presse)

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*. (Sous presse)

21. Walling E, Vourey E, Ansquer D, Beliaeff B, Goarant C. *Vibrio nigripulchritudo* monitoring and strain dynamics in shrimp pond sediments. *J Appl Microbiol*. (Sous presse)

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

2.1 COMMUNICATIONS ORALES

- Goarant C., Vernel-Pauillac F., Guigon A., Perez J., Brescia F., Picardeau M., Nato F., Chanteau S. : « Leptospirosis as a major public health concern in New Caledonia : the need for a multidisciplinary approach ». 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- Le Hello S., Lévy M., Yvon J.F., Charavay F., Brown M., Page S., Garin B. : « Predominance of ST306 serotype 1 among invasive *Streptoccocus pneumoniae* in the South Pacific. 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- Bourguet E., Guillaumot L. , Pfannstiel A., Guigon A., Noël M., Grangeon J.P., Chanteau S. : « Vector surveillance and control of *Aedes aegypti* in New Caledonia ». 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- Majorel-Loulergue C, Maggia L, Wabete N, Goarant C, Lebrun M, Amir H, Angue JC : The regional genomic core research facilities for life science in New-Caledonia « Plate-Forme du Vivant de Nouvelle-Calédonie : PFV-NC". In: Proceedings of the *11th Pacific Science Inter-Congress: 2009; Tahiti, French Polynesia*; 2009.
- Beliaeff B, Chim L, Della Patrona L, Goyard E, Herlin J, Labreuche Y, Walling E, Ansquer D, Brun P, Castex M, Coatanea D, Courties C, De Lorgeril J, Dufour R, Frappier J, Goarant C, Huber M, Lemaire P, Lemonnier H, Le Roux F, Loubersac L, Lucas R, Patrois J, Peignon JM, Pham D, Ramage Y, Soulard B, Vic M, Vourey E, Wabete N. : « Deduction: A Research Project for Shrimp Farming Sustainability in New Caledonia ». In: Proceedings of the 11th Pacific Science Inter-Congress: 2009; Tahiti, French Polynesia; 2009: 6 pages.
- Le Roux F, Labreuche Y, Xue H, Goarant C, Iqbal N, Vic M, Reynaud Y, Saulnier D, Mangenot S, Médigue C, Polz M, Waldor M & Mazel D. : « Molecular mechanisms in emergence of *Vibrio nigripulchritudo* as a shrimp pathogen. Vibrio 2009, Rio de Janeiro, Brazil, 4-6 Novembre 2009. Keynote lecture. Book of abstract, page 48.
- O. O'Connor, M. Grandadam, M. Dupont-Rouzeyrol. : « Implementing a molecular dengue diagnostic procedure on the LC480" . Roche User Group, 18-21 octobre 2009, Taupo, Nouvelle-Zélande.
- Magnat E., Rouleau V., Camus E., Rouchon B., Verhaegen V, Baumann F. : « Evaluation of the cervical cancer screening program in New Caledonia and highest risk population ». Congrès IARC, Nouvelle-Orléans (USA). 31 mai au 09 juin 09.
- A.C. Gourinat et coll. :« New Caledonia's response to influenza A(H1N1) pandemic ». The 3rd meeting of national influenza centers in the Western Pacific and South East Asia regions. Atelier OMS, 18-20 août 2009. Pekin, Chine.
- R Goursaud et coll. : « Pandémie de Grippe A/H1N1v et rôle du laboratoire de référence : Leçons apprises en Nouvelle Calédonie pendant l'hiver Austral ». Atelier Institut Pasteur. 03 septembre 2009. Paris, France.
- A.C Gourinat et coll. : « Echanges d'expériences sur la pandémie de grippe A(H1N1) 2009 dans l'hémisphère sud ». Atelier INVS. 19 novembre 2009. Paris France.
- Baumann F. : « Bilan de 30 années de recueil de données ainsi que les deux études sur les cancers du poumon et du col de l'utérus ». Conférence de l'Association médicale de Nouvelle-Calédonie et de la Ligue contre le cancer, 20 octobre 2009, Nouméa.
- Guillaumot L et coll. Surveillance du vecteur de la dengue en Nouvelle-Calédonie. Réunion ACIP « Global Network for Dengue Research ». IP Paris. 01-03 déc. 09.

2.2 COMMUNICATIONS AFFICHEES

- Guigon A., Vernel-Pauillac F., Perez J., Chanteau S., Goarant C. : « the 2008 leptospirosis epidemic in New Caledonia : weather context, diagnosis, burden disease and future research ». 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- Le Hello S., Doloy A., Roques N., Coudène P., Lacassin F., Bouvet A. : « Diversity of *Streptococcus pyogenes* in invasive infections in New Caledonia ». 11th Pacific Science Inter-Congress , 2-6 mars 09.
- Vernel-Pauillac F., Goursaud R., Merien F., Nicholas R., Tapsall J. , Goarant C. : « Phenotypic and molecular study of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* collected by a New Caledonia sentinel network ». 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- Mermond S., Berlioz-Arthaud A. : « Un cas d'histoplasmose disséminée à *Histoplasma capsulatum* en Nouvelle-Calédonie ». 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- Pauillac S., Kumar-Roiné S., Matsui M., Reybier K., Darius T., Chinain M., Laurent D. : « Nitric oxide production in Pacific ciguatoxin-1B-stimulated RAW 264.7 cells : evidence for the role of NO pathway in the pathophysiology of ciguatera fish poisining in a mouse model ». 11th Pacific Science Inter-Congress , 2-6 mars 09.
- Matsui M., Kumar-Roiné S., Chinain M., Laurent D., Pauillac S. : « modulation of iNOS and cytokines expression by plants extracts traditionally used for the treatment of Ciguatera in the South Pacific : characterisation of their anti-inflammatory activity ». 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- M. Matsui, S. Kumar-Roiné, M. Chinain, D. Laurent, S. Pauillac. : « evaluation of the anti-inflammatory potential of plant extracts traditionally used for the treatment of Ciguatera Fish Poisoning in the South Pacific", *Actes des Doctoriales de Tahiti 2009*, Papeete, Tahiti, Polynésie Française.
- Mermond S., Berlioz-Arthaud A., Baumann F., Estivals M., Levenes H., Goursaud R., Martin P. : « Epidémiologie des pneumopathies communautaires de l'adulte responsables d'hospitalisation en Nouvelle-Calédonie ». 11th Pacific Science Inter-Congress, 2-6 mars 09.
- Goyard E., Goarant C., Brun P., Herlin J., Pham D., Beliaeff B., Harache Y., Loubersac L., & Patrois J. : "Genetic improvement strategy in small aquaculture industries : the New Caledonian shrimp experience". Eleventh Pacific Science Inter-congress, 02 – 06 March 2009, Tahiti – French Polynesia. Book of abstracts page 284.
- Mermond S., M. Dupont-Rouzeyrol, V. Zurawski, L. Besson-Leaud, I. Missotte, J. Moïsi, M. Knoll, P. Martin, O. Levin and S. Chanteau. : "PERCH project in New-Caledonia". Network week ARI and Encephalitis Asia-Pacific, Pasteur Institut, 3-5 juin 2009, Saigon, Vietnam.
- Mermond S., A. Berlioz-Arthaud, F. Baumann, M. Estivals, H. Levénes, R. Goursaud and P. Martin. : " Etiology of community-acquired pneumonia among hospitalized adult patients in New-Caledonia" Network week ARI and Encephalitis Asia-Pacific, Pasteur Institut, 3-5 juin 2009, Saigon, Vietnam.
- Baumann F., Maurizot P., Robineau B., Ambrosi J.P., Viel J.F. "Facteurs de risque du mésothéliome en Nouvelle-Calédonie : données épidémiologiques et géologiques". 11th Pacific Science Inter-Congress , 2-6 mars 09.
- Baumann F., Obach D., Fesq G., Levenes H., Langin T., Rouleau V. : « Survival in lung cancer by gender, age, ethnicity and history in New Caledonia, 1990-2005 ». Congrès IARC, Nouvelle-Orléans (USA). 31 mai au 09 juin 09.

3. MEMOIRES DE THESES ET DOCUMENTS DIVERS

- Scotet J. Mémoire de DES de Biologie Médicale tenant lieu de thèse de D.E. de docteur en pharmacie : « Etude de l'impact du vaccin heptavalent conjugué sur le portage rhinopharyngé du pneumocoque chez les enfants âgés de 2 à 24 mois en Nouvelle-Calédonie ». Université Claude Bernard, Lyon 1, 1er octobre 2009.
- Matsui M. Thèse de doctorat, Science du Vivant, spécialité Biochimie : « Rôle des cytokines dans la ciguatera : application à l'étude de remèdes traditionnels du Pacifique ». Université de la Nouvelle-Calédonie, 10 novembre 2009.
- Kumar-Roiné S. Thèse de doctorat, Science du Vivant, Spécialité Pharmacologie Cellulaire et Pharmacognosie : « Valorisation de remèdes traditionnels utilisées dans le traitement de la ciguatera dans le Pacifique ». Université de la Nouvelle-Calédonie, 09 novembre 2009.
- Etude de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux macrolides en Nouvelle-Calédonie : prévalence, phénotypes de résistance et distribution des sérogroupes. S. Mermond. Master 1 « Etudiants en Santé ». Université d'Auvergne. 23 décembre 2009.

- Radigue C. Rapport de stage, DUT de Génie Biologie à l'IUT de Caen : « aperçu des méthodes d'analyse des bactéries en biologie médicale ». Juin 2009.
- J. Perez, VCAT sous la responsabilité de C. Goarant, en collaboration avec F. Brescia de l'Institut Agronomique néo-Calédonien. Rapport de l'étude « Densités des rongeurs et portage de Leptospira spp. pathogènes : résultats des campagnes d'étude 2009 au sein des tribus de Pöté (Pothé) et Buiru (Bouirou), commune de Bourail ».

4. GRAND PUBLIC

4.1 EXPOSITION ET CONFERENCES GRAND PUBLIC

A l'occasion des 120 ans de l'Institut Pasteur s'est tenue à la mairie de Nouméa du 8 au 24 avril 2009 , une exposition intitulée «Histoire d'une épopée au service des hommes » sous la forme d'une quarantaine de panneaux. Cette exposition a été co-organisée par le musée de la ville, le musée de l'Institut Pasteur à Paris et l'IPNC. Des visites guidées ont été proposée pour les collégiens en collaboration avec l'association des professeurs de sciences (Symbiose)
Quatre conférences grand public ont été proposées :

. « Si Monsieur Pasteur revenait aujourd'hui…. » (J. Roux),
. « La leptospirose en Nouvelle-Calédonie » (C. Marchal, S. Barny, J.P. Grangeon et C. Goarant),
. « La lèpre en Nouvelle-Calédonie » (S. Boyer et C. Terrier),
. « La dengue en Nouvelle-Calédonie » (J.P. Grangeon, A. Guigon, L. Guillaumot).

4.2 FETE DE LA SCIENCE

Dans le cadre de la Fête de la Science, comme chaque année, l'IPNC propose des matinée portes ouvertes aux collégiens et lycéens, et participe à la journée de la science pour le grand public. En 2009, cette manifestation s'est également déplacée en province Nord et dans les îles Loyauté.

4.3 BROCHURE DE PRESENTATION IPNC

Cette brochure, éditée en 600 exemplaires, a été diffusée localement et dans le Réseau International des Instituts Pasteur. Elle retrace l'histoire, les missions actuelles et les perspectives d'avenir de l'IPNC, avec l'appui de l'Etat et du Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie.

COLLOQUES, CONGRES, ATELIERS SCIENTIFIQUES

1. COLLOQUES, CONGRES, CONFERENCES, ATELIERS

- Chanteau S. 11th Pacific Science Inter-congress. Papeete (Tahiti), 02- 08 mars 09 : Chanteau S, Guigon A, Guillaumot L, Pauillac S, Matsui M.
- Congrès annuel de l' « International Association of Cancer Registries », Nouvelle-Orléans (USA). 31 mai au 09 juin 09. Baumann F.
- Réunion OMS sur les stratégies de renforcement des laboratoires de santé publique pour l'Asie et le Pacifique. Nandi (Fidji). 24-28 mai 09. Goursaud
- Assemblée des 100 & réunion du RIIP. Institut Pasteur à Paris. 20-26 juin 09. Chanteau S.
- 3e réunion des centres nationaux de la grippe des régions du Pacifique Occidental et de l'Asie du Sud-est. Pékin (R.P. Chine). 18-22 août 09. Gourinat AC
- Atelier Grippe à l'IP Paris. 03-04 sept. 09. Goursaud R.
- Réunion annuelle des Directeurs du RIIP. Rio de Janeiro (Brésil). 17-25 oct. 09. Chanteau S.
- Réunion « Applied Science Roche User group », Taupo (Nlle –Zélande). 18-22 oct. 09. Matsui M, O'Connor O.
- 20e conférence sur le cancer en Asie Pacifique. Tokyo (Japon). 12-14 nov. 09. Baumann.
- Réunion de l'Institut National de Veille Sanitaire (INVS) sur le « retour d'expérience des pays touchés par la grippe H1N1 ».19-20 nov. 09. Gourinat AC.
- Réunion OMS sur la lutte anti-vectorielle de la dengue. Hanoi (Vietnam). 21-28 nov. 09. Guillaumot L.
- L. Réunion ACIP « Global Network for Dengue Research ». IP Paris. 01-03 déc. 09. Chanteau S ; Guillaumot L.

www.institutpasteur.nc

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