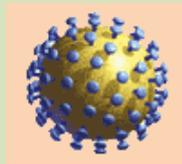
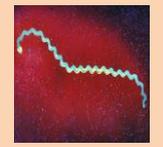
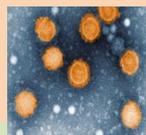
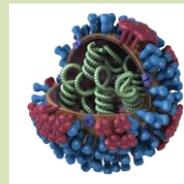
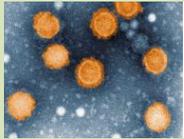


Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

La Recherche

Rapport d'activités

2013



Professeur Dominique BAUDON
 Directeur général de l'IPNC

Doc. n° 156 /2014-IPNC/DG du 25 juin 2014

Recherche : les chiffres et informations CLES 2013

L'IPNC

- Etablissement secondaire de l'Institut Pasteur
- Fondation privée reconnue d'utilité publique
- Membre du réseau International des Instituts Pasteur
- *Mission principale : lutte contre les maladies infectieuses*

4 Activités principales

- **Recherche et expertises**
- Santé publique (surveillance biologique des maladies)
- Enseignement/formation
- Analyses médicales, analyses eaux & aliments

Finances

9,5 Millions € = 1,13 milliards XPF
de budget pour l'IPNC

Budget pour la Recherche

876 500 € 104,6 millions XFP
9,2 % du budget de l'IPNC

5 Unités de Recherche & d'Expertise (URE)

- Leptospirose/ URE-L
- Dengue et autres Arboviroses/URE-DA
- Rhumatisme Articulaires Aigu/URE-RAA
- Epidémiologie des maladies infectieuses/URE-Emi
- Entomologie médicale/ URE-Em

1 Laboratoire de Haute sécurité biologique
P2 +, le seul présent en Nouvelle-Calédonie

Effectif total : 78

Personnels scientifiques et associés : **53** - 68%

Recherche : **7** Chercheurs (3 PhD)
2 ingénieurs, **2** techniciens

Biologie : **5** biologistes
33 techniciens de laboratoire
4 autres personnels

25 personnels « support » - 32 %

1 personnel support pour **2** scientifiques

21 projets de recherche

14 Publications (Revue internationale)

12 Communications dont **4** posters
(Congrès internationaux) et 8 communications à la
1^{re} Journée scientifique internationale de l'IPNC.

3 Laboratoires de Biologie Médicale

- Bactériologie/Parasitologie/Mycologie
- Immuno-sérologie/Biologie moléculaire
- Hématologie

1 Laboratoire Hygiène et Environnement

Des faits marquants

Réunion du **Conseil scientifique** de l'IPNC, les 20 et 21 novembre 2013
Nomination d'un **Coordinateur scientifique** auprès du Directeur général : Dr Cyrille Goarant

1^{re} Journée scientifique internationale de l'IPNC, le 22 novembre 2013

Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

La Recherche

Rapport d'activités

2013

Plan du Rapport

I – Les Unités de Recherche et d’Expertise	p 4
II – Liste des 21 projets de recherche.....	p 5
III – Les 21 fiches projets de recherche par thématique.....	p 7
IV - Valorisation scientifique	p 35
- Publications, communications, posters	
- Participation à des congrès	
- Première Journée scientifique de l’IPNC	
V - Résumés des communications dans des revues internationales	p 39
VI – Réunion du Conseil scientifique de l’IPNC.....	p 44
Annexes	
1 - Le financement de la Recherche à l’IPNC en 2013.....	p 45
2 - Les bailleurs de fonds - Les partenaires impliqués dans les 21 projets de recherche....	p 46
3 - Fiche de présentation générale de l’IPNC.....	p 47
3 - Organigramme: décembre 2013.....	p 50
4 et 5 - Liste des responsables des services, URE et laboratoire : courriels, annuaire.....	p 51

Rapport réalisé avec la participation de :

Pr D. BAUDON :	Directeur général
P. COCHOU :	Directeur des affaires administratives et financières
C. GOARANT, M. MATSUI :	URE - Leptospirose
M. DUPONT-ROUZEYROL, O. O’CONNOR : ..	URE - Dengue et autres Arboviroses
L. GUILLAUMOT :	URE - Entomologie médicale
N. BAROUX :	URE-Epidémiologie des maladies infectieuses et URE-RAA
A.C. GOURINAT :	Laboratoire de Sérologie immunologie et biologie moléculaire
J. COLOT :	Laboratoire de Bactériologie/parasitologie/Mycologie
S. MERMOND, N. AMEDEO.....	Laboratoire d’Hématologie - Observatoire régional du pneumocoque

Ce rapport présente une synthèse des activités de recherche de l’IPNC en 2013.
Si vous souhaitez avoir des informations plus détaillées sur un projet de recherche, vous pouvez vous adresser aux responsables d’URE et de laboratoires, dont vous trouverez les courriels et téléphones en annexes 4 et 5 de ce rapport, pages 51 et 52.

La Recherche en 2013 à l'IPNC

Deux évènements marquants en 2013

Réunion du Conseil scientifique de l'IPNC (CS) : 19-20 novembre 2013, Nouméa.

Le CS, sur proposition du Pr Baudon, a validé la création d'une fonction de Coordinateur scientifique de l'IPNC et la désignation du Dr Cyrille Goarant pour occuper cette fonction. (cf. p 44)

1^{re} Journée scientifique internationale de l'IPNC, le 22 novembre à Nouméa

«*Arboviroses et leptospirose : réservoirs, vecteurs et maladies humaines* »

22 communications scientifiques, dont 8 par des scientifiques de l'IPNC (cf. programme p. 38)

I – Les 5 Unités de Recherche et d'Expertise / URE

7 chercheurs (dont 3 PhD), deux ingénieurs, deux techniciennes de recherche
3 thématiques : Leptospirose, Arboviroses et ses vecteurs, Rhumatisme Articulaire Aigu
21 projets de recherche en 2013

Unité de Recherche et d'expertise : URE	Chef de l'unité	Personnels en 2013
URE-Leptospirose :	Cyrille GOARANT (PhD - HDR)	- Mariko MATSUI (PhD, chercheur) - Noellie GAY (MSc, Volontaire Service Civique) - Marie-Estelle SOUPE-GILBERT (technicienne recherche)
URE- Dengue et Arboviroses	Myrielle DUPONT-ROUZEYROL (PhD)	- Elefthérios CHALKIADAKIS (Doctorant) - Elodie CALVEZ (MSc, Volontaire Service Civique) - Olivia O'CONNOR (technicienne recherche)
URE-Entomologie médicale	Laurent GUILLAUMOT (Ingénieur Recherche)	- 1 aide laborantin
URE-Rhumatisme articulaire Aigu	Eric D'ORTENZIO (MD, MSc) (départ fin avril 2013)	- Noémie BAROUX : Epidémiologiste statisticienne
URE- Epidémiologie des maladies infectieuses - Soutien aux projets	Eric D'ORTENZIO (MD, MSc) (départ fin avril 2013)	- Noémie BAROUX : Epidémiologiste Statisticienne, ingénieur.

Les stagiaires dans les URE en 2013

Stage dans l'URE-Leptospirose

Alison KEM-SENG - Licence 3^{ème} année, Science de la vie, de la Terre et de l'Environnement, Université de la Nouvelle-Calédonie (UNC) - Stage du 9 décembre 2013 au 17 janvier 2014, encadré par Mariko Matsui. Sujet : Mise en place des paramètres de PCR quantitative dans le cadre d'une étude sur l'immunologie dans la leptospirose

Stage dans l'URE Dengue et Arboviroses

Sébastien Arrighi, L2 UNC - Stage du 02/12/2013 au 27/12/2013, encadré par M. Dupont-Rouzeyrol. Sujet : Phylogénie Dengue

Jack Sheppard, L3 Oxford University, 12/08/2013 au 30/08/2013, encadré par M. Dupont-Rouzeyrol. Sujet : Phylogénie Dengue et Chikungunya

- Soutien à la recherche par les trois laboratoires de biologie médicale :

ImmunoSérologie et Biologie moléculaire : Dr Ann-Claire Gourinat.

Bactériologie, Parasitologie, Mycologie : Dr Julien Colot.

Hématologie, Dr Sylvain Mermond : Dr Nathalie Amédéo, à partir d'avril 2013.

II - Liste des 21 projets de recherche en cours ou finalisés en 2013, par thématique

Leptospirose : 10 projets URE Leptospirose

Chercheur principal : C Goarant (IPNC / URE-L)

- 1 - Etude d'un mutant avirulent de *Leptospira interrogans*
- 2 - Recherche d'indicateurs pronostiques de gravité lors d'une infection à *Leptospira*: suivi sur patients hospitalisés.
- 3 - Epidémiologie moléculaire de la leptospirose humaine en Nouvelle-Calédonie
- 4 - Eco-épidémiologie de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie et à Futuna
- 5- La leptospirose dans les états insulaires du Pacifique : développement des capacités diagnostiques et évaluation du poids de la maladie.
- 6 – Modélisation de l'incidence de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie

Chercheur principal : M Matsui (IPNC / URE-L)

- 7- Etude de la physiopathologie rénale sur modèle animal lors du portage chronique de leptospires virulents
- 8 - Rôle de l'IL 10 dans la physiopathologie de la leptospirose
- 9 - Etude de la régulation du système flagellaire des leptospires *in vivo*

Chercheur principal : Benoît Garin, Institut Pasteur de Madagascar - Chercheur IPNC : Cyrille Goarant (IPNC/URE-L)

- 10 - Diagnostic de la leptospirose parmi des groupes à risque et des syndromes fébriles à Tananarive et à Bangui

Arboviroses : 7 projets URE Dengue et arboviroses – URE Entomologie médicale

11 - DENPACSUD : Epidémiologie moléculaire des virus de la dengue des épidémies passées et actuelles de Nouvelle-Calédonie et du Pacifique sud.

Chercheur principal : VM Cao-Lormeau, Institut Louis Malardé

Chercheurs IPNC : M. Dupont-Rouzeyrol, O. O'Connor

12 - ESANC : Séroprévalence de la dengue et autres arboviroses en Nouvelle-Calédonie.

Chercheur principal : DASS-NC- CNR Marseille

Chercheurs IPNC : M. Dupont-Rouzeyrol, O. O'Connor, E. Calvez, AC Gourinat

13 – DENNAT : Risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant en période prénatale et durant la lactation.

Chercheur principal : E. Descloux, N. Sigur (CHT)

Chercheurs IPNC : M. Dupont-Rouzeyrol, O. O'Connor, AC Gourinat.

14 – Phylogénie moléculaire des Arbovirus en Nouvelle-Calédonie.

Chercheur principal : M. Dupont-Rouzeyrol (IPNC), O. O'Connor (IPNC).

15 - AeDenPac : Le moustique *Aedes aegypti*, vecteur de la dengue et du chikungunya dans le Pacifique : surveillance et acquisition des connaissances pour un meilleur contrôle.

Chercheur principal : L. Guillaumot (IPNC).

Autres chercheurs IPNC: M. Dupont-Rouzeyrol, E. Calvez, O. O'Connor

16 - Evaluation d'une stratégie d'auto-dissémination du pyriproxyfène pour la lutte contre le moustique *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) en Nouvelle-Calédonie.

Chercheur principal : J-P Grangeon (DASS-NC) – Chercheur IPNC : L. Guillaumot (URE-EM)

17 - Etude de l'influence de la température sur l'expression et l'activité des enzymes de détoxification des insecticides et conséquences sur la résistance chez *Aedes aegypti*.

Chercheur principal : I. Dusfour (IPG) - Chercheur IPNC : L. Guillaumot.

**Rhumatisme articulaire aigu : 3 projets
URE RAA**

18 - Etudes épidémiologique, clinique et moléculaire des infections à streptocoques bêta-hémolytiques du groupe A, Nouvelle-Calédonie, 2012.

Chercheurs principaux : E. D'Ortenzio et N. Baroux (IPNC).

19 - Revue systématique de la littérature des souches de streptocoque du groupe A probablement rhumatogènes

Chercheur principal : N. Baroux (URE-EMI, IPNC).

20 - Etude de la susceptibilité génétique aux infections invasives à Streptocoque du Groupe A dans le Pacifique : Nouvelle-Calédonie

Chercheur principal Thomas Parks
University of Oxford Roosevelt, Drive, Oxford, OX3 7BN, UK

Chercheurs IPNC D. Baudon, N. Baroux, J. Colot

Autres projets de recherche : 1

21- Bioprospection et biodiversité des bactéries marines des milieux atypiques de Nouvelle-Calédonie : valorisation biotechnologique (IPNC/URE-DA)

Chercheur principal : M. Dupont-Rouzeyrol (IPNC) et C. Simon-Colin, avec E. Chalkiadakis (doctorant IPNC/IFREMER)

III - Les 21 fiches projets de recherche par thématique

Leptospirose : 10 projets

1- Etude d'un mutant avirulent de *Leptospira interrogans*

Chercheurs principaux : Cyrille GOARANT (URE-L) et Mathieu PICARDEAU (Institut Pasteur, Paris)

Autres chercheurs : Jérôme BECAM, volontaire civique à l'aide technique à l'URE-L

Collaborations nationales : (en NC, DOM-TOM, POM et Métropole)

Azad ESHGHI, Ambroise LAMBERT, Odile SISMEIRO, Marie-Agnès DILLIES, Bernd JAGLA, Jean-Yves COPPEE (Institut Pasteur, Paris)

Collaborations internationales :

Elsio WUNDER, Albert KO (Yale School of Public Health, USA)

Budget du projet : 8 000 € soit 960 000 FCFP

Financement : Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie et Institut Pasteur de Paris (financement ANR de l'Unité de Biologie des Spirochètes)

Echéancier : Début : octobre 2011 - Fin prévue : fin 2013

Contexte :

Très peu de connaissances ont été acquises sur les mécanismes physio-pathologiques conduisant aux formes graves de leptospirose. Les facteurs de virulence des leptospires pathogènes sont notamment très mal élucidés, compromettant le développement de stratégies thérapeutiques originales, de vaccins ou d'outils diagnostiques novateurs et performants.

Le développement à l'Institut Pasteur d'une technique de mutagenèse aléatoire des leptospires pathogènes a toutefois permis d'identifier quelques facteurs contribuant à la virulence des leptospires. Dans ce contexte, les équipes de l'Institut Pasteur (Unité de Biologie des Spirochètes, Dr M. PICARDEAU) et de Monash University en Australie (Dr G. MURRAY et Pr Ben ADLER) ont renforcé leur collaboration et mis à disposition de la communauté scientifique des mutants aléatoires générés dans le cadre de leurs programmes.

Récemment, un mutant a été obtenu par insertion du transposon dans un gène codant, pour une protéine de fonction inconnue, présentant des homologies avec des régulateurs transcriptionnels des bactéries à Gram positif. Ce mutant ne contient effectivement qu'un transposon, ne présente pas d'altération de la croissance en culture *in vitro*, mais présente un phénotype altéré dans sa virulence *in vivo* sur modèle animal sensible.

Objectifs principaux :

La caractérisation de ce mutant pourrait permettre d'identifier certains mécanismes originaux impliqués dans la virulence des leptospires pathogènes.

Méthodologie :

Dans un premier temps, la caractérisation du phénotype du mutant a été précisée *in vivo* et en culture. Ensuite, le transcriptome de ce mutant a été comparé au transcriptome de la souche sauvage parentale virulente par une technique de RNA-seq, permettant de mettre en évidence un pool de gènes dont l'expression est altérée par cette mutation.

Enfin, la complémentation de la souche mutante avec une copie intacte du gène interrompu a été effectuée, afin d'évaluer si une restauration de la virulence est obtenue.

Résultats:

L'analyse bio-informatique du gène interrompu chez le mutant suggère que ce gène code un régulateur transcriptionnel de type RsbU, impliqué dans la réponse au stress. L'étude comparative des transcriptomes du mutant M77 et de sa souche parentale sauvage à 30°C et 37°C met en évidence de très vastes changements des gènes exprimés, ou réprimés entre ces deux souches. Les gènes différenciellement exprimés incluent des gènes codant pour des régulateurs transcriptionnels, des gènes impliqués dans l'assemblage du flagelle, dans le chimiotactisme. Une observation phénotypique poussée montre par ailleurs une mobilité moindre du mutant par rapport à sa souche sauvage parentale. Les contributions respectives de la mobilité diminuée et des modifications des transcriptomes ne peuvent malheureusement pas être évaluées à l'aide de ce mutant.

La complémentation du mutant a pu être effectuée avec succès. Toutefois, la mobilité n'est pas restaurée au niveau de la souche parentale sauvage. La virulence du mutant complémenté n'est pas non plus restaurée. Toutefois, le gène interrompu étant le premier d'un opéron de 4 gènes, la forte diminution de l'expression des 3 gènes situés en aval pourrait expliquer l'absence de restauration du phénotype.

Valorisation actuelle :

Eshghi A, Becam J, Lambert A, Sismeiro O, Dillies MA, Jagla B, Wunder EA, Ko AI, Coppee JY, Goarant C, Picardeau M. (2014). A regulatory genetic locus modulates virulence in the pathogen *Leptospira interrogans*. Infection and Immunity, **82**: 2542-2552.

Conclusion et perspectives :

Malgré la complémentation réussie, il n'est pas possible de conclure sur la perte de virulence de ce mutant. En effet, le gène interrompu est le premier de 4 gènes organisés en opéron. Chez le mutant, l'expression des 3 gènes en aval du transposon est très largement diminuée (résultat obtenu en qPCR et en RNAseq). Ainsi, la complémentation ne restaure probablement l'expression que d'un seul de ces 4 gènes.

La comparaison des transcriptomes met en évidence un nombre de gènes dérégulés très important, aussi bien à 30°C (reflétant les conditions de culture) qu'à 37°C (reflétant les conditions *in vivo* lors d'une infection). L'obtention d'un mutant indépendant dans cette même région pourrait permettre de favoriser l'hypothèse probable de la perte de virulence, par l'interruption de l'un au moins de ces 4 gènes.

Pour plus d'informations, contacter Dr Cyrille GOARANT : cgoarant@pasteur.nc

2- Recherche d'indicateurs pronostiques de gravité lors d'une infection à *Leptospira* : suivi sur patients hospitalisés.

Chercheur principal : Cyrille GOARANT (URE-L)

Autres participants au projet : Marie-Estelle SOUPÉ-GILBERT, Lilian BRUYERE-OSTELLS, Carine MAURON, techniciens de recherche et Frédérique VERNEL-PAUILLAC, ancienne ingénieure de recherche, URE-L

Collaborations Nationales : (en NC, DOM-TOM, POM et Métropole)

Marc MIKULSKI, Flore LACASSIN et Dominique BONTE, Centre Hospitalier Territorial Gaston Bourret, Nouméa, Nouvelle-Calédonie

Pascal BOISIER, consultant indépendant (Centre Pasteur du Cameroun au début du projet)

Promoteur : Institut Pasteur

Budget du projet : environ 35 000 €, soit 4 200 000 FCFP

Financement : Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

Echéancier : Début : janvier 2009 - Fin prévue : septembre 2013

Contexte :

L'évolution d'une leptospirose clinique vers une forme grave, potentiellement mortelle, est associée à une atteinte multiviscérale, incluant parfois une atteinte pulmonaire, dont le tableau anatomo-pathologique et clinique est évocateur du sepsis sévère. La réponse cytokinique est largement étudiée dans le cadre de l'évolution des sepsis, avec des perspectives thérapeutiques d'en infléchir l'évolution. Les paramètres biologiques ayant montré leur pertinence dans les études du choc septique ou du sepsis sévère ont été étudiés chez des patients atteints de leptospirose clinique. La mise en évidence de paramètres ayant une valeur pronostique pourrait être utilisée pour le triage des patients, lors d'épidémies de leptospirose, ou d'épidémies conjointes de dengue et de leptospirose, périodes au cours desquelles les structures de soin intensifs peuvent être limitantes.

Objectifs principaux :

L'étude a pour objectif principal d'identifier des profils cytokiniques ayant une valeur pronostique de l'évolution (plus ou moins sévère) d'une leptospirose clinique chez des patients hospitalisés. A terme, l'identification de marqueurs pronostiques de gravité peut permettre une meilleure prise en charge thérapeutique, avant la dégradation de l'état général des patients, ou aider au triage lors d'épidémies limitant l'accès aux structures de soins intensifs.

Méthodologie :

Ce projet portant le numéro RBM 2008.34 a reçu un avis favorable de la DASS-Nouvelle-Calédonie, en date du 20 janvier 2009, du Comité de Protection des Personnes Ile de France IV, en date du 27 mars 2009, enfin du CCTIRS, en date du 16 avril 2009. Il a également fait l'objet d'une déclaration à la CNIL en juin 2009. Enfin, une autorisation de démarrage des travaux a été obtenue en août 2009.

La méthode mise en œuvre était celle d'une étude prospective observationnelle.

Les patients de l'étude étaient des patients hospitalisés au CHT entre 2009 et 2011, pour lesquels un diagnostic étiologique de leptospirose avait été confirmé par méthode sérologique et/ou moléculaire.

L'objectif principal était d'identifier quels paramètres cliniques ou biologiques (variables explicatives) relevés à l'admission des patients étaient associés à l'évolution vers une forme sévère (variable dépendante à 2 modalités), définie par la survenue à n'importe quel moment de l'hospitalisation d'un décès et/ou de la nécessité d'une hémodialyse et/ou d'une ventilation assistée.

Les variables catégorielles ont été décrites sous forme de pourcentages et intervalles de confiance à 95%. Les variables quantitatives ont été décrites par leur médiane et les 25^e et 75^e percentiles. Les associations entre la variable dépendante et les variables catégorielles ont été testées par le test exact de Fisher, entre la variable dépendante et les variables continues par le test de Kruskal Wallis. Pour tous les tests, un seuil de significativité de 0,05 a été retenu.

Les variables quantitatives significativement associées à la variable dépendante ont été recodées en variables catégorielles à 2 modalités codées 0 et 1. Pour chaque variable catégorielle significativement associée à la variable dépendante, le risque d'observer une forme sévère a été exprimé sous forme d'un odds-ratio univarié (avec son intervalle de confiance à 95%), calculé par régression logistique.

Résultats:

Au cours de deux années consécutives, un total de 48 patients adultes et ayant fourni un consentement éclairé a pu être inclus dans l'étude. Ces patients présentaient presque tous des formes graves de leptospirose, et 4 sont décédés de la leptospirose. La collecte des données cliniques et des résultats des analyses biologiques de ces patients a été beaucoup plus longue et fastidieuse que prévue et n'a pu être menée à terme, qu'en avril 2012. L'ensemble des données a ensuite été saisi, anonymisé et transmis au biostatisticien avec lequel ce projet est réalisé.

L'analyse des résultats est encore en cours et devrait s'achever en fin de premier semestre 2013. Nous avons choisi une définition de cas sévères, identique à celle récemment choisie dans un travail rétrospectif sur des patients de Nouvelle-Calédonie (voir fiche de l'URE-EMI), jugée adaptée à la recherche de facteurs pronostiques : les cas sont classés comme sévères s'ils ont conduit à un décès, et/ou ont nécessité une hémodialyse, et/ou une ventilation assistée. Les autres cas sont considérés comme non sévères.

Valorisation actuelle :

Mikulski M, Boisier P, Lacassin F, Soupé-Gilbert ME, Mauron C, Bruyere-Ostells L, Bonté D, Barguil Y, Gourinat AC, Matsui M, Vernel-Pauillac F, Goarant C. (soumis) Prognosis in severe leptospirosis. Soumis.

Conclusion et perspectives :

Les paramètres discriminants mis en évidence dans le cadre de cette étude pourraient donc présenter un intérêt pronostique. Ils pourraient maintenant être évalués sur une cohorte de patients reçus en consultation pour une leptospirose, qu'ils soient ou non hospitalisés, afin d'évaluer leur validité sur une autre cohorte, ainsi qu'un nombre plus élevé de patients.

Pour plus d'informations, contacter Dr Cyrille GOARANT : cgoarant@pasteur.nc

3- Epidémiologie moléculaire de la leptospirose humaine en Nouvelle-Calédonie

Chercheur principal : Cyrille GOARANT (URE-L)

Technicien de recherche : Marie-Estelle SOUPÉ-GILBERT

Réalisé avec le support technique de la Plateforme du Vivant de Nouvelle-Calédonie

Budget du projet : 15 000 €, soit 1 800 000 FCFP

Financement : Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie et Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie (Subvention de Santé Publique)

Echéancier : Action continue depuis 2009

Contexte :

Lors des diagnostics de leptospirose humaine, le sérotype infectant est classiquement identifié de façon présomptive, par l'antigène donnant le titre le plus élevé dans la réaction sérologique de micro-agglutination (MAT). L'identification du sérotype infectant est importante, puisqu'elle permet d'identifier le réservoir animal en cause. L'augmentation des diagnostics précoces par PCR en temps réel prive le plus souvent le laboratoire de sérums convalescents positifs en sérologie MAT, et donc de l'identification de la souche infectante.

Objectifs principaux :

L'objectif est donc d'identifier le leptospire responsable des cas humains diagnostiqués de façon précoce par une technique moléculaire.

Méthodologie :

Les travaux de recherche conduits à l'IPNC ont permis de mettre en place une identification du sérotype présomptif, par le séquençage du produit d'une PCR diagnostique.

Valorisation :

Ces résultats sont rapportés de façon annuelle à la DASS-Nouvelle-Calédonie.

Gourinat AC, Barthel A, Goarant C. 2013. La surveillance de la Leptospirose en Nouvelle Calédonie 2012.

Doc. n° 51/2013-IPNC/L-ISBM/URE-L/DG

Gourinat AC, Goarant C. 2014. La surveillance de la Leptospirose en Nouvelle Calédonie 2013.

Ils ont également été utilisés dans des publications :

- Gay N, Soupé-Gilbert ME, Goarant C. (2014) Though not reservoirs, dogs might transmit *Leptospira* in New Caledonia. International Journal of Environmental Research and Public Health. (Special Issue Leptospirosis in the Animal-Human-Ecosystem Interface) **11**:4316-4325.
- Goarant, C. (2014) Leptospirosis: Time to move to molecular epidemiology: Comments on "Reassessment of MLST schemes for *Leptospira* spp. typing worldwide" by Varni and colleagues. Infection Genetics and Evolution. **21**:484-485.
- Goarant C, Colot J, Faelchlin E, Ponchet M, Soupé-Gilbert ME, Descloux E, Gourinat A-C (2014) An exotic case of leptospirosis imported into an endemic area. Travel medicine and infectious disease **12**:198-200.
- Guerrier G, Hie P, Gourinat AC, Huguon E, Polfrit Y, Goarant C, D'Ortenzio E, Missotte I. (2013). Association between Age and Severity to Leptospirosis in Children. PLoS Neglected Tropical Diseases **7**:e2436.
- Tubiana S, Mikulski M, Becam J, Lacassin F, Lefèvre P, Gourinat A-C, Goarant C, D'Ortenzio E (2013) Risk Factors and Predictors of Severe Leptospirosis in New Caledonia. PLoS neglected tropical diseases **7**(1):e1991.

Conclusion et perspectives :

Cette action est poursuivie de façon durable, le diagnostic précoce par qPCR occupant une place croissante.

Pour plus d'informations, contacter Dr Cyrille GOARANT : cgoarant@pasteur.nc

4- Eco-épidémiologie de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie et à Futuna

Chercheur principal : Cyrille GOARANT

Autres chercheurs : Jérôme BECAM (URE-L) - Technicien de recherche : Marie-Estelle SOUPE-GILBERT

Réalisé avec le support technique de la Plateforme du Vivant de Nouvelle-Calédonie .

Collaborations nationales :

Fabrice BRESCIA et Thomas HUE, Institut Agronomique néo-Calédonien

Jörn THEUERKAUF et Hervé JOURDAN, Institut de Recherche pour le Développement

Céline MARCHAL, Direction des Affaires Vétérinaires Alimentaires et Rurales de la Nouvelle-Calédonie

Patrick BARRIERE, Centre de Régulation des Gros Gibiers (CREGG)

Budget du projet : 10 000 €, soit 1 200 000 FCFP

Financement : Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, Subvention Recherche du Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie

Echéancier : Début : 2008 - Fin prévue : 2015

Contexte : La leptospirose est une zoonose complexe qui mêle environnement, animaux réservoirs (rongeurs, mais aussi d'autres mammifères domestiques ou sauvages), et hôtes sensibles dont l'homme. Une meilleure connaissance des populations réservoirs (espèces, densités, répartition) et des souches de leptospires permettra de mieux appréhender un des maillons peu connus de cette maladie, et de définir des stratégies de lutte adaptées.

Objectifs principaux : L'objectif de ce projet est de parfaire les connaissances sur le réservoir animal de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie. Placés en parallèle à l'identification des souches responsables des cas humains, ce travail permettra de mieux appréhender les animaux réservoirs impliqués dans les cas humains de leptospirose en Nouvelle-Calédonie, et d'identifier les populations animales sur lesquelles un effort de contrôle sanitaire devrait être exercé ou renforcé.

A Futuna, où l'incidence de la leptospirose humaine est très élevée, nous avons voulu évaluer l'impact de l'introduction récente du rat noir (*Rattus rattus*) dans un écosystème, où seuls le surmulot (*Rattus norvegicus*), le rat polynésien (*Rattus exulans*) et la souris (*Mus musculus*) étaient présents.

Méthodologie : En Nouvelle-Calédonie, des échantillons de porcs et de cerfs sauvages ont été collectés par l'intermédiaire du CREGG, dans le cadre d'une convention entre l'IPNC, la DAVAR, l'IAC et le CREGG.

A Futuna, des reins de rats adultes ont été collectés entre 2008 et 2012. Tous ces échantillons ont été stockés en éthanol jusqu'au laboratoire de l'IPNC, où les ADN ont été extraits et étudiés pour la présence de leptospires, selon les techniques décrites dans nos travaux antérieurs. Les échantillons positifs ont été typés selon la même procédure que celle utilisée pour identifier les souches responsables des cas humains.

Résultats : Les résultats obtenus sur les porcs et cerfs sauvages seront présentés conjointement avec ceux obtenus par les collaborateurs signataires de la convention. Un portage de *Leptospira interrogans* de séro-groupe présomptif Pomona a été mis en évidence chez une partie des porcs sauvages.

A Futuna, les résultats acquis entre 2008 et 2012 suggèrent que l'introduction du rat noir, en modifiant les équilibres écologiques entre surmulots et rats polynésiens, pourrait aboutir à un accroissement du réservoir de leptospirose, que constituent les rongeurs, et à une augmentation conséquente du risque pour les humains.

Valorisation actuelle :

- Theuerkauf J, Perez J, Taugamo A, Niutoua I, Labrousse D, Gula R, Bogdanowicz W, Jourdan H, Goarant C. (2013) Leptospirosis risk increases with changes in species composition of rat populations. *Naturwissenschaften* 100:385-388
- Gay N, Soupe-Gilbert ME, Goarant C. (2014) Though not reservoirs, dogs might transmit *Leptospira* in New Caledonia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. (Special Issue Leptospirosis in the Animal-Human-Ecosystem Interface) 11:4316-4325.

Conclusion et perspectives : L'étude des réservoirs animaux de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie sera poursuivie et renforcée en 2013, notamment grâce au recrutement d'un jeune ingénieur de recherche en Volontariat de Service Civique sur ce thème, au sein de l'URE-L. L'effort portera principalement sur l'identification d'une souche dont le réservoir demeure inconnu.

Pour plus d'informations, contacter Dr Cyrille GOARANT : cgoarant@pasteur.nc

5- La leptospirose dans les états insulaires du Pacifique : développement des capacités diagnostiques et évaluation du poids de la maladie.

Chercheur principal : Cyrille GOARANT, IPNC

Autres personnels IPNC impliqués :

Ann-Claire GOURINAT, (Medical Biologist, IPNC)

Marie-Estelle SOUPÉ-GILBERT, (Research technician, IPNC)

Collaboration nationale :

Agence de Santé des îles Wallis & Futuna

Collaborations internationales :

Ministère de la Santé du Vanuatu

Ministère de la Santé de Fiji

College of Medicine, Nursing and Health Sciences, Fiji National University, Fiji

Budget du projet : 350 000 €, soit 42 000 000 FCFP

Financement : Secrétariat Permanent pour le Pacifique, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

Echéancier : Début : octobre 2011 - Fin prévue : décembre 2014

Contexte :

La leptospirose est la zoonose la plus répandue au niveau mondial, et est également fréquemment décrite comme une maladie tropicale émergente, principalement en région intertropicale. Néanmoins, du fait de la diversité des tableaux cliniques et des difficultés de son diagnostic biologique, elle est souvent négligée et non prise en compte dans le diagnostic différentiel des syndromes fébriles aigus. La mise en place d'une capacité diagnostique de cette maladie permettra sa meilleure prise en charge, la mise en place d'une antibiothérapie précoce étant un élément déterminant du pronostic de cette maladie parfois fatale.

L'acquisition d'une compétence diagnostique de cette maladie pouvant avoir un poids considérable en santé publique semble importante dans les états partenaires.

La reconnaissance de l'expertise de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie sur les questions de santé publique, notamment sur la leptospirose, constitue un atout pour l'insertion régionale de la Nouvelle-Calédonie.

A part dans les 3 collectivités françaises (Nouvelle-Calédonie, Polynésie, Wallis & Futuna) où des données épidémiologiques et l'expertise biologique de diagnostic sont disponibles, la leptospirose est peu documentée dans le reste du Pacifique, alors que les conditions écologiques et les suspicions cliniques portent à croire que cette maladie est fréquente.

Objectifs principaux :

- Etablir et animer un réseau d'institutions, de médecins et de biologistes témoignant un intérêt dans le diagnostic et l'évaluation de l'incidence de la leptospirose à Fidji, au Vanuatu et à Wallis et Futuna. Etablir des circuits d'acheminement et d'échanges de prélèvements permettant la confirmation des cas suspects par l'IPNC. Ceci nécessite la mise en place de convention d'échanges de matériel biologique (sérum précoces pour diagnostic moléculaire, sérum tardifs pour diagnostic sérologique, le MAT utilisant un large panel de sérogroupes, extraits ADN, amplicons diagnostiques...);
- Mettre en place un diagnostic sérologique rapide de première intention de la leptospirose dans les archipels de Fidji et du Vanuatu ;

- Transférer et accompagner la mise en place d'une capacité de diagnostic moléculaire de la leptospirose à Fidji, avec l'appui de l'expertise de l'IPNC dans ce domaine (choix de la technique, mise au point et optimisation, sensibilité et spécificité...);
- Caractériser les souches de leptospires impliqués dans les cas humains de leptospirose, par analyse des séquences des cas confirmés par PCR, ou par analyse des sérologies positives, à l'aide du MAT utilisant un large panel de sérogroupes;
- Investiguer, le cas échéant, une épidémie ou un cluster de cas survenant au cours du projet dans l'un des pays partenaires;
- Etendre la capacité diagnostique aux cas cliniques vétérinaires et aux animaux potentiellement réservoirs, afin de permettre d'éventuelles mesures de lutte ciblées sur les réservoirs liés aux cas humains.

Méthodologie :

Transfert de technologie, accueil de stagiaires et sessions de formation sur site.

Mise en œuvre d'une étude clinique chez les 3 partenaires.

Animation du projet, réflexions sur le secteur vétérinaire et les animaux réservoirs.

Résultats préliminaires :

Les techniques diagnostiques ont été mises en place au cours de l'année 2012, par l'accueil de stagiaires et / ou des sessions de formation sur site. Les techniques d'ELISA IgM sont ainsi disponibles chez nos 3 partenaires, la PCR en temps réel est également en place à Fidji.

Les démarches administratives et éthiques ont (pour leur plus grande partie) été menées à bien en 2013. L'étude clinique elle-même a débuté en 2013 au Vanuatu et à Wallis et Futuna. Elle a seulement débuté en mars 2014 à Fidji.

Des documents pédagogiques et de sensibilisation ont également été réalisés pour le Vanuatu.

Conclusion et perspectives :

La mise en place de ce projet demande beaucoup d'énergie et d'animation, mais l'étude clinique permettra d'accroître les connaissances sur le poids de cette maladie négligée dans les pays insulaires partenaires.

Pour plus d'informations, contacter Dr Cyrille GOARANT : cgoarant@pasteur.nc

6 – Modélisation de l'incidence de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie

Chercheur principal : Cyrille GOARANT, IPNC

Autres chercheurs : Noémie BAROUX, URE-EMI

Collaboration :

Daniel WEINBERGER, Albert KO, Yale School of Public Health, New Haven, USA

Jean-Paul GRANGEON, Direction des Affaires Sanitaires et Sociales de la Nouvelle-Calédonie

Budget du projet : 1 500 € (MESR, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie)

Echéancier : Début : janvier 2013 – Fin : mars 2014

Contexte : La leptospirose est une maladie environnementale dans laquelle les conditions météorologiques jouent un rôle prépondérant. Dans le Pacifique tropical, la variabilité des conditions météorologiques est sous forte influence du phénomène de l'oscillation australe El Niño. Les paramètres météorologiques et les mesures atmosphériques et océaniques réalisées dans le cadre du suivi de l'oscillation El Niño pourraient permettre d'expliquer la variabilité inter-annuelle de l'incidence de la leptospirose, et de prévoir les épidémies.

Objectifs principaux : L'objectif de ce projet est de construire un modèle explicatif, liant les phénomènes climatiques, météorologiques et l'incidence de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie, ainsi que d'essayer d'établir un modèle prédictif.

Méthodologie : Les données anonymisées sur les cas de leptospirose étaient issues du laboratoire de biologie médicale de l'IPNC. Elles ont été collectées, nettoyées (suppression d'éventuels doublons ou des cas non attribuables à la Nouvelle-Calédonie, vérification de la date du premier prélèvement). Les données météorologiques ont été gracieusement fournies par Météo-France. Les données atmosphériques ou océanographiques du suivi de l'oscillation australe El Niño ont été collectées sur les bases de données publiques via internet.

La base de données ainsi constituée a servi à évaluer un modèle explicatif, ainsi qu'un modèle prédictif.

Résultats : Les données permettent une très bonne modélisation explicative de la variabilité de l'incidence de la leptospirose en Nouvelle-Calédonie. Un autre modèle permet également de prédire, avec une précision raisonnable, le risque d'une incidence anormalement élevée, quatre mois avant le début du phénomène épidémique.

Valorisation actuelle :

Weinberger D, Baroux N, Grangeon J.-P., Ko A. I., Goarant C. (2014). El Niño Southern Oscillation and leptospirosis outbreaks in New Caledonia. *PLoS neglected tropical diseases* **8**:e2798.

Conclusion et perspectives : L'utilisation d'un modèle prédictif permettrait d'améliorer la préparation des périodes épidémiques, au niveau de la gestion des risques, de la sensibilisation de la population et de l'information du corps médical.

Pour plus d'informations, contacter Dr Cyrille GOARANT : cgoarant@pasteur.nc

7- Etude de la physiopathologie rénale sur modèle animal lors du portage chronique de leptospires virulents

Chercheur principal : Mariko MATSUI (Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie)

Autres chercheurs : Cyrille GOARANT, responsable de l'URE-L

Louise ROCHE, stagiaire de Master 2 à l'URE-L

Marie-Estelle SOUPE-GILBERT, technicienne de recherche

Collaboration : Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHT Gaston-Bourret, Nouméa

Vincent MONIQUET, médecin anatomopathologiste, ancien responsable

Martine ROUDIER, médecin anatomopathologiste, ancien responsable

Michel HUERRE, médecin anatomopathologiste, ancien responsable

Budget du projet : 5 000 € (MESR, IPNC)

Echéancier : Début : janvier 2011 – Fin : prévue en mai 2013, terminée en décembre 2013

Contexte : Ce projet fait suite aux résultats obtenus lors du stage de Louise ROCHE, portant sur la physiopathologie de la leptospirose sur modèle animal, lors de l'infection par un isolat de *Leptospira borgpetersenii* séro groupe Ballum B3-13S. De façon intéressante, le portage chronique de cet isolat (B3-13S ; isolé d'un rein de souris capturée à l'état sauvage en Nouvelle-Calédonie) avait alors été confirmé sur le hamster syrien doré lors de nos expérimentations animales jusqu'à 28 jours postinfection.

Objectifs principaux : Le hamster, d'ordinaire considéré comme un modèle susceptible à la leptospirose et employé comme tel, représente ainsi un nouveau modèle atypique de réservoir potentiel de leptospires virulents. Nous nous sommes alors intéressés aux aspects physiopathologiques, au niveau rénal lors de la phase de portage chronique, en comparant ce modèle de portage chronique au modèle réservoir classique murin chez la souris. Pour cela, nous nous sommes intéressés au développement des lésions rénales, en association avec la caractérisation du profil d'expression génique des médiateurs de l'inflammation, comme les cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , TNF- α et anti-inflammatoire IL-10.

Méthodologie : Les expériences ont d'abord permis de caractériser la virulence de l'isolat B3-13S sur hamster. Nous avons alors infecté les souris et les hamsters avec une dose de 10^{E8} leptospires et quantifié la charge bactérienne au niveau rénal par qPCR. Le suivi histologique a permis de visualiser les lésions rénales, et les colorations HE (hématoxyline-éosine), BA (bleu alcyan) et WS (Warthin-Starry) ont été utilisées respectivement pour l'observation des lésions tissulaires, la présence de mucopolysaccharides et pour la localisation des leptospires. La quantification de l'expression génique des cytokines rénales a été effectuée par RT-qPCR.

Résultats : Les résultats ont montré la présence de l'isolat B3-13S dans les reins de hamsters ayant survécu à l'infection jusqu'à 28 jours postinfection. Les observations histologiques ont permis de mettre en évidence des néphrites chroniques ou aiguës accompagnées de congestions focales, ainsi que la production de mucopolysaccharides dans la lumière des tubules. La coloration WS a mis en évidence de larges agrégats de leptospires dans la zone centrale de la lumière des tubules. Cela semble contraster avec la localisation endoluminale, mais périphérique des spirochètes dans les tubules rénaux chez les souris. La quantification de l'expression génique des messagers de l'inflammation a révélé des différences significatives, quant à l'expression des cytokines entre portage chronique chez un animal sensible, et celui observé chez un animal réellement réservoir.

Communications : 1 communication orale en congrès international.

Matsui M, Soupe-Gilbert ME, Roche L, Moniquet V, Roudier M, Goarant C. (2013) Renal pathophysiology during chronic leptospirosis depending on animal models, *VIIIth meeting of the International Leptospirosis Society*, 08-11 octobre 2013, Fukuoka, Japon.

Pour plus d'informations, contacter Dr Mariko MATSUI : mmatsui@pasteur.nc

8 – Rôle de l'IL 10 dans la physiopathologie de la leptospirose

Chercheur principal : Mariko MATSUI (Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie)

Autres chercheurs : Cyrille GOARANT, responsable de l'URE-L

Marie-Estelle SOUPE-GILBERT, technicienne de recherche

Collaborations nationales :

Centre d'Immunologie Humaine (CIH), Institut Pasteur, Paris, France

Milena HASAN, responsable de la plateforme technique du CIH

Unité Cytokines et Inflammation, Institut Pasteur, Paris, France

Jean-Marc CAVAILLON, responsable de l'Unité Cytokines et Inflammation

Budget du projet : 48 500 € (MESR, IPNC, Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie)

Echéancier : Début : décembre 2012 – Fin : prévue en 2015

Contexte : Pour mieux comprendre la physiopathologie de la leptospirose, nous avons précédemment étudié la régulation de la réponse immunitaire (et plus particulièrement l'expression des cytokines) chez des modèles animaux infectés avec une souche virulente de *Leptospira interrogans*. Cette approche comparait les réponses des animaux selon leur sensibilité ou résistance à la maladie. [Gene expression profiles of immune mediators and histopathological findings in animal models of leptospirosis: comparison between susceptible hamsters and resistant mice, *Infection and Immunity*, 2011, 79(11): 4480-4492]. Nous avons montré que les cytokines pro-inflammatoires et les chimiokines étaient exprimées massivement et tardivement dans le sang et les organes de hamsters (modèle sensible avec des lésions sévères, une bactériémie élevée et une issue fatale), alors qu'elles étaient rapidement exprimées puis restaurées à leur état basal chez des souris (modèle résistant, lésions absentes ou frustes et clearance rapide des leptospires). De façon intéressante, l'interleukine-10 (IL-10), cytokine ayant des propriétés anti-inflammatoires, bien que surexprimée dans les deux modèles animaux, était induite plus tardivement et maintenue à des niveaux plus faibles dans le sang et les organes de hamsters sensibles.

Objectifs principaux : L'IL-10 régule la réponse inflammatoire en inhibant l'expression de cytokines pro-inflammatoires, et protège de l'endotoxémie liée à l'expression massive de cytokines. Le rôle de l'IL-10 a également été étudié dans une autre infection à spirochète, la maladie de Lyme due à *Borrelia burgdorferi*. Dans la leptospirose humaine, les études rapportent des résultats contradictoires montrant qu'un niveau élevé d'IL-10 dans le sérum de patients est corrélé à la survie ou à une issue fatale. En parallèle, nos résultats sur modèle animal montrant une expression forte et précoce d'IL-10 chez les souris résistant aux leptospires pathogènes, nous émettons l'hypothèse que l'activité anti-inflammatoire précoce due à l'IL-10 contribue à cette résistance à l'infection. Notre objectif est de clarifier le rôle de l'IL-10 dans la réponse immunitaire face à la leptospirose, et sa contribution éventuelle à la résistance de l'hôte et/ou à la clairance des leptospires suite à une infection, en comparant des modèles animaux sensibles ou résistants.

Démarche expérimentale : L'effet de la neutralisation de l'IL-10 (chez la souris), ou éventuellement sa supplémentation (chez le hamster), sera évalué en quantifiant l'expression des médiateurs de l'inflammation au niveau transcriptionnel (RT-qPCR) et protéiques (technologie Luminex) dans le sang et les tissus. Nous étudierons, dans un premier temps, le rôle de l'IL-10 dans le modèle résistant murin, par l'administration d'anticorps monoclonaux anti-IL-10 préalable à l'infection par la souche virulente *Leptospira interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae Verdun. La courbe de croissance des animaux sera analysée et l'expression génique des cytokines ainsi que la charge bactérienne seront quantifiées dans le sang et les organes.

Résultats préliminaires : Nos résultats préliminaires montrent que la pré-neutralisation de l'IL-10 des souris infectées avec la souche Verdun présentent une perte de poids significative par rapport aux témoins et aux souris infectées n'ayant pas reçu d'injection d'anticorps anti-IL-10. De plus, la charge bactérienne dans les reins et le foie des animaux est diminuée chez les animaux chez lesquels l'IL-10 a été neutralisée par l'anticorps.

Perspectives : L'analyse de la régulation de l'expression des cytokines est en cours. Des expériences complémentaires sont prévues en 2014.

Pour plus d'informations, contacter Dr Mariko MATSUI : mmatsui@pasteur.nc

9 - Etude de la régulation du système flagellaire des leptospires *in vivo*

Chercheur principal : Mariko MATSUI (Gouvernement de Nouvelle-Calédonie)

Autres chercheurs : Cyrille GOARANT, responsable de l'URE-L

Marie-Estelle SOUPE-GILBERT, technicienne de recherche

Collaboration : Unité des Spirochètes, Institut Pasteur, Paris

Mathieu PICARDEAU, responsable de l'Unité de Biologie des Spirochètes

Ambroise LAMBERT, 3^{ème} année de thèse à l'Unité de Biologie des Spirochètes

Budget du projet : 14 500 € (MESR, IPNC)

Echéancier : Début : février 2012 – Fin : prévue en 2015

Contexte : Lors de notre étude publiée dans le journal *Applied and Environmental Microbiology* (Differential *In Vivo* Gene Expression of Major *Leptospira* Proteins in Resistant or Susceptible Animal Models, 78 (17) : 6372–6376), nous avons mis en évidence une régulation différentielle de l'expression du gène *flaB2*, qui code pour une sous-unité protéique majeure du flagelle des leptospires. En effet, la répression de l'expression de FlaB2 dans le sang de souris par rapport aux conditions de cultures *in vitro* et l'absence de régulation dans le sang de hamster laissent supposer qu'une perte de mobilité des leptospires pourrait se produire dans le modèle murin, favorisant leur élimination par le système immunitaire de l'hôte, ou limitant sa capacité à coloniser les organes cibles.

Objectifs principaux : La mobilité des leptospires pourrait être un paramètre important du maintien de la virulence de ces bactéries au cours de l'infection. Nous nous intéressons donc à l'étude de la régulation des protéines du système flagellaire des leptospires, selon les conditions environnementales (partie 1) : *in vivo*, dépendamment de l'hôte et *in vitro*, selon les conditions de cultures. L'implication possible que cela pourrait avoir au niveau de la mobilité de ces bactéries (partie 2) sera aussi prospectée en collaboration avec l'Unité de Biologie des Spirochètes.

Méthodologie : Pour la partie (1), nous avons ciblé les gènes impliqués dans le système flagellaire des leptospires. Ils codent, soit pour des sous-unités du filament flagellaire (*flaA1*, *flaA2*, *flaB1*, *flaB2*, *flaB3*, et *flaB4*), soit pour un constituant de la jonction (*flgL*) ou de la partie basale (*flhF*, *fliL* et *fliY*), ou encore pour des protéines impliquées dans le moteur flagellaire (*flhA*, *fliO*, *fliS*). La quantification de l'expression génique de ces protéines a été effectuée dans un modèle animal sensible (hamster Syrien doré), ou résistant (souris OF1), injectés avec la souche virulente Verdun de *Leptospira interrogans* sérovar Icterohaemorrhagiae ou la souche L495 de *L. interrogans* sérovar Manilae (plus mobile que la souche Verdun). Par ailleurs, la régulation de ces mêmes protéines sera étudiée à partir de sang récupéré de patients humains infectés par des leptospires du sérovar Icterohaemorrhagiae. Parallèlement, l'expression de ces gènes cibles sera étudiée comparativement, selon que les leptospires soient cultivés en milieu EMJH en présence de sérum provenant de souris, hamster et humain (à 30 et 37°C). L'expression génique est quantifiée par la technique de RT-qPCR, après extraction des ARN totaux sanguins, ou purifiés des cultures *in vitro*. Concernant la partie (2), la mobilité des leptospires sera évaluée selon le type de sérum (provenant de souris ou de hamster), utilisé pour la culture des leptospires grâce à la mesure de la vitesse, ou du type de déplacement par observation microscopique à fond noir.

Résultats préliminaires : Concernant l'étude de l'expression des gènes cibles *in vivo*, à partir d'animaux infectés avec la souche Verdun, 3 sous-unités du filament flagellaire sont différemment régulées entre hamster et souris de façon significative (**FlaB1** et **FlaB2**, $p < 0,05$), ou avec une tendance non significative (**FlaB3**, $p = 0,0519$). Si nous n'avons pas observé de régulation différentielle significative entre hamsters et souris dans le sang des animaux pour les autres gènes (*flaA1*, *flaA2*, *flaB4*, *flgL*, *flhA*, *flhF*, *fliL*, *fliO*, *fliS*, et *fliY*), pour les gènes **flgL**, **flhA** et **fliL**, on observe tout de même une différence significative de l'expression entre les leptospires en culture *in vitro*, et dans le sang des animaux. Cette différence est d'autant plus significative si on compare l'expression *in vitro* vs *in vivo* globale (cumul de l'expression hamsters + souris). Concernant l'étude de l'expression *in vivo* pour la souche L495 du sérovar Manilae, le seuil de détection de l'expression des gènes, notamment des gènes de référence, est trop faible pour permettre la détection des transcrits. Cela s'explique par la dose infectante utilisée pour cette souche (1×10^6 bactéries), plus faible par rapport à celle utilisée pour la souche Verdun (2×10^8 bactéries).

Perspectives : Les étapes suivantes seront : d'effectuer l'étude comparative de l'expression des gènes cibles de leptospires *in vitro*, sur sérum selon la provenance du sérum (souris, hamster, humain), et d'étudier l'expression de ces gènes à partir de sang de patients humains (partie 1) ; éventuellement d'évaluer la mobilité des 2 souches étudiées (partie 2), selon les conditions de culture par vidéo-microscopie (Unité de Biologie des Spirochètes).

Pour plus d'informations, contacter Dr Mariko MATSUI : mmatsui@pasteur.nc

10 - Diagnostic de la leptospirose parmi des groupes à risque et des syndromes fébriles à Tananarive et à Bangui

Chercheur principal : Benoit GARIN, Institut Pasteur de Madagascar

Collaborations nationales : Cyrille GOARANT, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie
Pascale BOURHY, Centre National de Référence de la Leptospirose, Institut Pasteur, France

Collaborations internationales : Rindra RANDREMANANA, Mino RAJERISON et Ronan JAMBOU, Institut Pasteur de Madagascar - Sébastien BREUREC, Institut Pasteur de Bangui

Promoteur : Institut Pasteur

Budget du projet : 56 640 €, soit 6 759 000 FCFP, dont 11 700 €, soit 1 396 180 FCFP attribués à l'IPNC
Financement : Division International Institut Pasteur (ACIP)

Echéancier : Début : décembre 2012 - Fin prévue : décembre 2014

Contexte : La leptospirose est une maladie infectieuse (zoonose) due à une bactérie du genre *Leptospira*. Sept de ces espèces *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weili*, *L. kirschneri* et *L. alexanderi* sont les principaux agents de la leptospirose. Le réservoir des leptospires pathogènes est essentiellement animal (rats), mais se trouve aussi être le sol et l'eau. La contamination se fait principalement à travers l'eau ou la boue contaminée par des urines d'animaux infectés essentiellement par les muqueuses. La maladie revêt des aspects cliniques très variés, du syndrome pseudo-grippal, aux formes éventuellement létales (hépatorénales, pulmonaires). La confirmation diagnostique par le laboratoire d'un cas suspect de leptospirose nécessite l'utilisation conjointe de plusieurs types d'examen : culture, qPCR, ELISA et MAT (test de référence). La leptospirose est une anthrozoose essentiellement professionnelle (voiries, abattoirs, vétérinaires, animaliers). On estime à plus de 500 000, le nombre de cas de leptospiroses sévères par an, dans le monde, avec un taux de mortalité supérieur à 10 %. L'épidémiologie de la leptospirose est étroitement liée aux conditions hygrométriques, et à la saison des pluies. Sa distribution géographique concerne donc surtout les pays chauds et humides : Asie du Sud-Est, Pacifique, Amérique latine, mais elle est décrite partout dans le monde. Dans la plupart des pays en voie de développement, la leptospirose est sous-diagnostiquée. Aussi bien à Madagascar qu'en Centrafrique, l'épidémiologie de la leptospirose est inconnue, bien qu'à Madagascar, il existe déjà des données permettant de penser que cette maladie pourrait être endémique.

Objectifs principaux : Evaluer les séroprévalences et incidences de la leptospirose dans deux populations à risque et dépister les cas cliniques parmi les syndromes fébriles recrutés hors hôpital.

Objectifs secondaires : mettre en place des outils diagnostics à l'Institut Pasteur de Madagascar et en Centrafrique. Identifier des sérovars circulants en pathologie humaine.

Méthodologie : Investigation de populations à risque de leptospirose (personnels de la voirie et les auxiliaires vétérinaires) et de patients cliniquement symptomatiques recrutés par les laboratoires des Instituts et le personnel des cohortes précédemment citées.

L'enquête sérologique sur les populations à risque comportera 2 prélèvements à 6 mois d'intervalle. Le diagnostic des cas cliniques fébriles sera fait grâce à la culture, la qPCR et l'ELISA.

Résultats préliminaires : Le démarrage du projet s'est concentré sur le choix des méthodes diagnostiques et l'échange de contrôles positifs quantifiés pour la PCR en temps réel. L'inclusion des volontaires dans une cohorte a été faite à Madagascar. Les résultats préliminaires suggèrent une incidence modeste de la leptospirose dans la cohorte étudiée. En République Centrafricaine, la situation politique n'a pas permis la réalisation de l'étude programmée.

Pour plus d'informations, contacter Dr Cyrille GOARANT : cgoarant@pasteur.nc , ou Dr Benoit GARIN : bgarin@pasteur.mg.

Arboviroses : 7 projets

11 - DENPACSUD : Epidémiologie moléculaire des virus de la dengue des épidémies passées et actuelles de Nouvelle-Calédonie et du Pacifique sud

Coordinateur: VM CAO-LORMEAU, Institut Louis Malardé

Chercheurs IPNC : M. DUPONT-ROUZEYROL, O. O'CONNOR

Collaborations Nationales : Institut Louis Malardé, Tahiti, Institut Pasteur, Paris

Collaborations Internationales : Centre Collaborateur OMS Arbovirus, Brisbane, Australie

Budget du projet : ANR (Agence Nationale pour la Recherche) 244 920 € dont IPNC : 45 240 € soit 5 428 800 FCFP

Echéancier : juillet 2009 - décembre 2013

Contexte :

La dengue classique et ses formes sévères restent un problème de santé publique majeur, dans pratiquement toutes les régions tropicales et intertropicales. 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*. Il existe quatre sérotypes de dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 et DENV-4). L'infection induit une immunité durable contre le sérotype infectant, mais l'immunité croisée contre les autres sérotypes n'est que temporaire.

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 DENV-1 a été à l'origine d'une véritable pandémie dans la région. Depuis les années 70, des épidémies dues aux différents sérotypes de dengue se sont succédé de façon régulière dans les îles du Pacifique Sud (SPIC). L'histoire aussi bien passée que contemporaine de la dengue dans le Pacifique Sud (Polynésie française, Îles Cook, Samoa, Tonga, Fidji, Wallis et Futuna-WF, Nouvelle Calédonie, Vanuatu), montre la nécessité d'y coordonner aussi bien les activités de surveillance que de recherche. Les contextes géographique et sociologique qu'elles partagent (insularité, climat, présence de vecteurs endémiques, faibles flux de population...) font de l'épidémiologie de la dengue dans ces îles, une exception parmi les autres régions du monde où circule le virus. De plus, la multiplication des échanges commerciaux avec ces régions et entre les îles s'est montrée particulièrement propice à l'émergence d'épidémies de dengue en cascade, notamment en 2003-2004, en 2007-2008 et en 2012-2013 avec la DENV-1, en 2008-2009 avec la DENV-4 et en 2013 avec la DENV-3.

Objectifs principaux :

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, événements 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 événements et les facteurs qui caractérisent l'épidémiologie de la dengue en Nouvelle-Calédonie et dans la région.

Méthodologie :

Analyse moléculaire des virus de la dengue, analyses phylogénétiques.

Résultats :

Depuis le début des années 2000, la Nouvelle-Calédonie a subi plusieurs épidémies de dengue de grande ampleur. Cette succession d'épidémies impliquant principalement le sérotype 1, sur une aussi longue période, est inhabituelle pour le pays. En effet, lors de l'introduction de DENV-4 en 2008, le remplacement de sérotype attendu n'a pas été observé, à l'inverse de ce qui s'est produit par le passé en Nouvelle-Calédonie ou en Polynésie Française en 2009. Enfin la réapparition de DENV-1 en 2010 et 2012, après déjà près de 10 ans de circulation de DENV-1 est surprenante.

Sur la base de la séquence du gène de l'enveloppe (gène E), les souches de DENV-1 se répartissent en 5 génotypes distincts, selon leur localisation géographique : génotype I (Asie du Sud-Est, Chine et Afrique de l'Est), génotype II (Thaïlande), génotype III (Malaisie), génotype IV (Pacifique) et génotype V (Amérique/Afrique). L'analyse phylogénétique des souches de DENV-1 circulant en NC et dans d'autres pays du Pacifique entre 2001 et 2013, a permis de mettre en évidence en Nouvelle-Calédonie de multiples introductions de DENV, en provenance du Pacifique (génotype IV), ou d'Asie du Sud-Est (génotype I). Une co-circulation des deux génotypes a notamment été observée en Nouvelle-Calédonie, au cours du premier semestre 2012 avant que le génotype I ne devienne prédominant, et soit à l'origine, en 2013, d'une des plus grandes épidémies de dengue que le territoire ait connue.

Valorisation actuelle :

Communications:

O'Connor O, Dupont-Rouzeyrol M. Epidémiologie moléculaire des virus de la dengue de type I circulant en Nouvelle-Calédonie entre 2001 et 2012. Atelier Phylogénie IAC, Mars 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Publications :

Dupont-Rouzeyrol M, Aubry M, O'Connor O, Roche C, Gourinat AC, Guigon A, Pyke A, Grangeon JP, Nilles E, Chanteau S, Askov J, Cao-Lormeau VM. (2014) Epidemiological and molecular features of dengue virus type-1 in New Caledonia, South Pacific, 2001-2013 *Virology Journal*, **11**:61.

Conclusion et perspectives :

Ces résultats soulignent l'intérêt d'une surveillance régulière des souches de DENV circulant en Nouvelle-Calédonie et dans le Pacifique. Le profil épidémiologique particulier des épidémies dans le Pacifique Sud suggère une soumission du virus à des contraintes spécifiques (facteurs environnementaux...). La perspective proche d'un futur vaccin contre les 4 sérotypes de virus de la dengue doit tenir compte de ce contexte insulaire, différent de celui des pays où se font actuellement les essais vaccinaux.

Pour plus d'informations, contacter Dr Myrielle DUPONT-ROUZEYROL : mdupont@pasteur.nc

Coordinateur: DASS-NC

Chercheurs IPNC : M. DUPONT-ROUZEYROL, O. O'CONNOR, E. CALVEZ

Collaborations nationales : CNR Arbovirus, Centre d'Epidémiologie et de Santé Publique des Armées, CHT G. Bourret, Institut Louis Malardé

Collaboration internationale : Secrétariat général de la Communauté du Pacifique

Budget du projet : Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie, dont CNR Arbovirus/IPNC : 10 000 €, soit 1 190 000 FCFP

Echéancier : novembre 2012 - décembre 2014

Contexte :

Les maladies transmises par les insectes sont largement répandues dans le monde, plus particulièrement dans les zones tropicales et intertropicales. Les arbovirus sont des virus ayant pour vecteur les arthropodes suceurs de sang : moustiques, tiques et phlébotomes. Ce nom provient de la contraction de l'expression anglaise arthropod-borne viruses. La classification regroupant les arbovirus en fonction de leur mode de transmission pose quelques problèmes, car elle rassemble des virus morphologiquement hétérogènes appartenant à plusieurs familles distinctes, et notamment *Flaviviridae*, *Togaviridae*... Chez l'homme, la plupart des infections à arbovirus sont asymptomatiques. En cas de maladie symptomatique, l'infection débute par un syndrome fébrile aigu, d'allure grippale, le plus souvent spontanément résolutif. Dans une proportion variable des cas et en fonction du virus en cause et du terrain, apparaîtra un syndrome polyalgique, des éruptions cutanées, un syndrome hémorragique, une méningo-encéphalite ou une atteinte hépatique ou rénale. L'identification et le diagnostic des arboviroses peuvent donc s'avérer difficiles s'ils ne sont basés que sur la clinique. Or, de nombreuses épidémies de dengue et d'autres arboviroses (Ross River, chikungunya...) ont touché la Nouvelle-Calédonie et le Pacifique depuis le début du XXème siècle. Si les épidémies de dengue sont relativement bien documentées, il n'en est pas de même pour les autres arboviroses. De ce fait, le niveau de protection immunitaire de la population calédonienne contre ces arboviroses n'est pas connu.

Objectifs principaux :

L'objectif principal de cette étude est de déterminer la séroprévalence des arboviroses (Virus de : Dengue 1 à 4, Chikungunya, Ross River, Nil Occidental, Zika et Encéphalite Japonaise) dans la population calédonienne.

Méthodologie :

Protocole de recherche non interventionnelle : étude observationnelle descriptive, transversale rétrospective, de séroprévalence.

Analyse biologique : ELISA IgG utilisant les protéines recombinantes mises au point par P. Desprès (Institut Pasteur, Paris), Séroneutralisation.

Résultats :

Les résultats préliminaires obtenus à partir des analyses ELISA menées à l'IPNC montrent qu'une part importante de la population est naïve vis-à-vis des arboviroses testées (1144 sérums analysés). Parmi les sérums positifs en ELISA, la dengue est l'arbovirose majoritaire. Ces résultats préliminaires sont cependant à prendre avec précautions, et doivent être confirmés par les études de séroneutralisation.

Valorisation actuelle :

Publications:

Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, I. Leparc-Goffart. Résultats préliminaires des analyses biologiques (ELISA) réalisées dans le cadre du projet de recherche ESANC. Doc. N° 13/2013 – IPNC – URE-DA/MDR – Octobre 2013. Diffusion : DASS-NC.

Conclusion et perspectives :

De nombreuses épidémies de dengue et d'autres arboviroses (Ross River, chikungunya...) ont touché la Nouvelle-Calédonie depuis le début du XXème siècle. Cependant, le niveau de protection immunitaire de la population n'est pas connu. Connaître le profil sérologique des Calédoniens pour les différentes arboviroses recherchées serait utile, afin de mieux définir la population susceptible d'être infectée par les futures épidémies.

Ces éléments permettraient également:

- de mieux connaître l'épidémiologie des arboviroses en Nouvelle-Calédonie,
- d'améliorer la stratégie de prévention,
- d'optimiser le diagnostic précoce,
- et de planifier les stratégies d'action face à l'introduction ou la réintroduction d'un de ces virus sur le territoire.

Pour plus d'informations, contacter Dr Myrielle DUPONT-ROUZEYROL : mdupont@pasteur.nc

13 – DENNAT : Risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant en période périnatale et durant la lactation.

Coordinateur : E. DESCLOUX (CHT) – N. SIGUR (CHT)

Chercheurs IPNC : M. Dupont-Rouzeyrol, O. O'Connor, AC Gourinat.

Collaborations :

CHT, DASS-NC, centres PMI (Protection Maternelle Infantile)

Contexte :

La dengue est une arbovirose potentiellement grave qui peut affecter une grande proportion de la population en Nouvelle-Calédonie. La transmission « verticale » de la dengue de la mère à l'enfant pendant la période périnatale a été décrite mais demeure peu étudiée. Ainsi, il est aujourd'hui difficile d'établir des recommandations ou des mesures préventives pour minimiser le risque de transmission aux nouveau-nés.

La transmission des arbovirus par le lait maternel a été décrite, notamment dans le cas du Virus du Nil Occidental (West Nile Virus). L'excrétion du virus de la dengue dans le lait maternel a été montrée récemment, mais la possibilité d'infection des nouveau-nés par cette voie n'a jamais été étudiée. Les objectifs de ce projet sont d'étudier les possibles voies de transmission du virus de la dengue entre la mère et son enfant 1), au cours de la période périnatale et durant l'allaitement.

Méthodes :

Etude prospective observationnelle et descriptive

Analyses:

- Statut immunitaire de la mère et de l'enfant pour la dengue,
- Détection et quantification du virus de la dengue dans le sang et le lait maternel, le sang de cordon, le placenta, le sang et le fluide gastrique du nouveau-né sur différents prélèvements autour de l'accouchement,
- Culture du virus pour contrôler sa viabilité dans les différents compartiments,
- Séquençage de marqueurs phylogénétiques viraux pour confirmer l'identité virale,
- Histologie du placenta.

Perspectives :

Cette étude permettra une meilleure compréhension des risques de transmission de la dengue en période périnatale, par l'identification des liquides biologiques et tissus contaminés et infectieux, ainsi que la description de la cinétique du virus entre ces différents compartiments. Elle permettra d'appréhender le rôle du statut immunitaire de la mère, et de la charge virale sanguine, et dans le lait dans la transmission à l'enfant. A terme, des mesures pratiques seront proposées pour réduire le risque de contamination de l'enfant.

Valorisation actuelle :

Communication:

Risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant en période périnatale et au cours de l'allaitement. Descloux E Sigur N, Barthel A, Hugon E., Arrangain L., Dechanet C., Grangeon JP., Dupont-Rouzeyrol M, Gourinat AC, 1^{ère} Journée Scientifique de l'IPNC, novembre 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie

Publication :

Barthel A, Gourinat AC, Cazorla C, Joubert C, Dupont-Rouzeyrol M, Descloux E. (2013) Breast milk as a possible route of vertical transmission of dengue virus? *Clin Infect Dis.* **57**:415-7.

Pour plus d'informations, contacter Dr Myrielle DUPONT-ROUZEYROL : mdupont@pasteur.nc

Coordinateur : M. DUPONT-ROUZEYROL

Chercheur IPNC : O. O'Connor

Contexte :

En 2013, la Nouvelle-Calédonie a été touchée par différents arbovirus : dengue (DENV-1), avec plus de 10 000 cas diagnostiqués (cf. DENPACSUD), chikungunya avec une trentaine de cas locaux, et zika (uniquement des cas importés de Polynésie Française où une épidémie a été déclarée en novembre 2013).

Concernant le virus du chikungunya, les analyses phylogénétiques ont montré que la souche CHIKV-NC-2013 appartenait au lignage asiatique, en accord avec l'origine probable du cas importé d'Indonésie. Bien que proche de la souche CHIKV-NC-2011, il est peu probable que cette seconde circulation locale du chikungunya soit due à une résurgence du virus importé en 2011.

Concernant le virus zika, une épidémie a été déclarée par les autorités sanitaires de Polynésie Française en novembre 2013. En 2013, en Nouvelle-Calédonie, uniquement des cas importés ont été diagnostiqués. Les analyses phylogénétiques préliminaires menées sur le virus isolé de cas importés ont confirmé l'origine asiatique de la souche polynésienne.

Conclusion et perspectives :

Les mesures de lutte antivectorielle importantes, l'arrivée de la saison fraîche, ainsi que des taux de transmission et des charges virales bas expliquent probablement la réussite à contenir les épidémies débutantes de chikungunya en 2011 et 2013. D'autres facteurs explicatifs, incluant des facteurs écologiques et sociaux, les interactions virus / moustique vecteur, virus / patients et leurs interactions devraient toutefois être étudiés en détail.

L'analyse du génome complet du virus CHIKV-NC-2011 a identifié une délétion de 7 acides aminés dans la protéine nsP3. Cette protéine est impliquée dans le complexe de réplication, et les délétions dans la protéine nsP3 sont habituellement bien tolérées par les alphavirus. Des études complémentaires ciblant la protéine nsP3 sont prévues sur les souches de CHIKV-NC-2013.

En conclusion, il est important et nécessaire de réaliser une surveillance génétique des souches de CHIKV circulant en Nouvelle-Calédonie et dans le Pacifique. En effet, deux épidémies très importantes de chikungunya ont été recensées dans le Pacifique en 2013, une en Papouasie Nouvelle-Guinée (lignée ECSA), et une actuellement à Yap, Etats Fédérés de Micronésie (lignée asiatique également).

Valorisation actuelle :

Publications:

O'Connor O, Dupont-Rouzeyrol M, Baudon D. Caractérisation génétique des souches du virus Chikungunya à l'origine de l'épidémie touchant la Nouvelle-Calédonie en 2013. Rapport d'Expertise. Juin 2013. Ref : 07/2013/IPNC- URE-DA/DG

Dupont-Rouzeyrol M., O'Connor O, Calvez E. Caractérisation génétique des souches de Chikungunya de Nouvelle-Calédonie, 2013. Complément. Rapport d'Expertise. Décembre 2013. Ref : 18/2013/IPNC- URE-DA/MDR-DG

Pour plus d'informations, contacter Dr Myrielle DUPONT-ROUZEYROL : mdupont@pasteur.nc

15 - AEDENPAC : Le moustique *Aedes aegypti*, vecteur de la dengue et du chikungunya dans le Pacifique : surveillance et acquisition des connaissances pour un meilleur contrôle

Chercheur principal : L. GUILLAUMOT

Autres chercheurs IPNC : M. DUPONT-ROUZEYROL, E. CALVEZ, O. O'CONNOR

Collaborations nationales : Institut Louis Malardé, Tahiti, Institut de Recherche pour le Développement, Nouméa, CHT Gaston-Bourret, Nouméa

Collaborations internationales : Ministère de la Santé de Fidji, Ministère de la Santé de Tonga, Université d'Otago, Nouvelle-Zélande, Secrétariat général de la Communauté du Pacifique

Budget du projet : Total : 220 000 € (phase 1 à 3), soit 26 400 000 FCFP
Fonds Pacifique (AFD) (phase 1 à 3), Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie (phase 1)

Echéancier : juillet 2012 - décembre 2015

Contexte :

Les maladies transmises par les insectes sont largement répandues dans le monde, plus particulièrement dans les zones tropicales et intertropicales. Nous sommes actuellement témoins de l'extension, l'émergence ou la réémergence de certaines d'entre elles, en lien avec les changements démographiques et sociétaux, ainsi que les modifications environnementales et climatiques. Les arboviroses ayant pour vecteurs des moustiques, comme la dengue, le zika et le chikungunya en constituent des exemples criants. Les virus de ces deux maladies sont transmis principalement par *Aedes aegypti*, mais également par d'autres moustiques du genre *Aedes*.

En l'absence de traitements spécifiques et de vaccins, les seules méthodes pour prévenir la transmission des virus de la dengue, du zika et du chikungunya, consistent à surveiller et contrôler le moustique vecteur. Aujourd'hui, l'efficacité de la lutte anti-vectorielle est altérée par l'apparition et la diffusion de phénomènes de résistance aux insecticides, et souffre, par ailleurs, d'une réduction drastique de l'éventail de molécules utilisables en santé publique. Qui plus est, le déficit de connaissances et de données récentes sur le statut des moustiques vecteurs dans la région, constitue un handicap majeur, les données entomologiques de référence pour les ETIOs (Etats et Territoires Insulaires d'Océanie) datant pour la plupart de plus de trente ans. Or, la diversité génétique, la structuration et la dynamique des populations de moustiques vecteurs sont des facteurs qui conditionnent, non seulement la distribution et l'évolution des résistances aux insecticides, mais également la compétence vectorielle, et donc les processus de transmission des pathologies infectieuses. La consolidation des données entomologiques relatives aux vecteurs d'arboviroses dans les ETIOs est un pré-requis indispensable à une meilleure évaluation du risque épidémique. Les épidémies d'arboviroses résultent d'interactions complexes entre l'homme, les vecteurs, les virus et l'environnement. Le climat, les activités et les comportements anthropiques sont autant de facteurs susceptibles de jouer un rôle déterminant sur la transmission des arboviroses, en agissant notamment sur la densité vectorielle, la durée du cycle vectoriel, ou encore la fréquence du contact homme-vecteur. Or, les liens associant la répartition et la densité des vecteurs, le climat et les dynamiques épidémiques restent imparfaitement connus.

Objectifs principaux :

Les activités prévues dans le cadre de ce projet sont centrées sur le principal vecteur de la dengue, du zika et du chikungunya dans les ETIOs, le moustique *Ae. aegypti*.

Ces activités ont pour objectifs :

- i) la mise en réseau de spécialistes dans les ETIOs concernés, avec pour objectif, la mise en place d'une surveillance entomologique pérenne dans les îles du Pacifique, par le biais du transfert des compétences nécessaires;
- ii) un contrôle plus efficace de ces pathologies par l'approfondissement des connaissances sur le vecteur visant à une meilleure compréhension de la transmission des agents pathogènes et des mécanismes de résistance aux méthodes de lutte (aspects de structuration génétique des populations, résistance aux insecticides, compétence vectorielle);
- iii) une caractérisation des relations existantes entre le climat, les vecteurs et les épidémies de dengue dans les états insulaires, débouchant sur la mise au point d'indices de risque prédictifs à partir des données climatiques. Ces connaissances seront nécessaires afin de guider les autorités sanitaires des pays concernés dans la mise en place de

stratégies de lutte anti-vectorielle adaptées, d'une part, et d'autre part, permettront la définition d'indicateurs de risque épidémique propres à chaque pays, éléments essentiels du processus de prévention.

Méthodologie :

Transfert de compétences : mise en place et amélioration du réseau de surveillance entomologique à Fidji et Tonga. Formation et perfectionnement de personnel local à l'identification des espèces de moustiques et au calcul d'indices de densité vectorielle, à l'élevage en insectarium, et à la réalisation des tests de résistance aux insecticides selon les protocoles OMS.

Etudier la variabilité biologique et génétique (méthode des microsatellites) des populations d'*Ae aegypti*, au sein d'une même île, et à travers l'Océan Pacifique, en suivant un transect Est/Ouest contenu entre les parallèles 10° et 22° Sud depuis les Îles Marquises (139°Ouest) jusqu'à Ouvéa (166°Est).

Etudier la compétence du vecteur pour le virus de la dengue, en fonction de la résistance aux insecticides chez des populations identifiées génétiquement, afin de perfectionner la compréhension de l'émergence et de l'amplification des épidémies à l'échelle locale.

Etudier l'influence des effets locaux du climat sur les vecteurs et sur les épidémies, et proposer un indice de risque basé sur les prévisions climatiques saisonnières, afin de prévoir les risques d'épidémie plusieurs mois à l'avance, et en réduire l'impact.

Résultats préliminaires :

Formation des entomologistes de Fidji et Tonga : suite à la formation dispensée à l'IPNC en 2012, une formation sur site a eu lieu à Fidji et Tonga : récolte de larves de moustiques, mise en place de l'insectarium (Tonga), mise en élevage et réalisation des premiers tests de résistance.

Diversité génétique : récolte des populations de moustiques de Nouvelle-Calédonie (Nouméa, Ouvéa, Poindimié), Polynésie Française (Papeete, Tubuai, Nuku Hiva), Fidji (Suva, Lautoka), Tonga (Tongatapu, Vava'u). Mise en place et optimisation des techniques d'analyse par microsatellites (sélection de 11 marqueurs) et d'analyse des gènes mitochondriaux (2 marqueurs). L'analyse des 3 populations de Nouvelle-Calédonie pour les marqueurs mitochondriaux laisse suggérer la présence de deux populations de moustiques (une d'origine asiatique et une d'origine américaine). Enfin, les résultats préliminaires d'analyse par microsatellites de 2 populations de Nouvelle-Calédonie montrent un polymorphisme important au sein de chaque allèle étudié.

Résistance aux insecticides : les 3 populations testées (2 de Nouvelle-Calédonie et 1 de Polynésie Française) présentaient une mortalité à la deltaméthrine supérieure à 96% : les populations testées sont donc sensibles.

Caractérisation des relations dengue/climat : collecte des données entomologiques, météorologiques et épidémiologiques réalisées pour la Polynésie Française, en cours pour Fidji et Tonga. Modèle descriptif mis en place pour la Polynésie Française.

Valorisation actuelle :

Dupont-Rouzeyrol M, Laqere P, Rama V, Tuangalu U, Cao-Lormeau VM, Mathieu-Daudé F, Mangeas M, Bossin H, Menkes C, Gourinat AC, Teurlai M, Descloux E, Pfannstiel A, Sakuntabhai A, Roth A, Souares Y, Hales S, Guillaumot L. 2013 AeDenPac: The *Aedes aegypti* Mosquito - A Dengue and Chikungunya Fever Vector in the Pacific. *Inform'Action*. Special Issue « Climate change and Health », August 2013

Conclusion et perspectives :

Le but de ce programme est de mettre en place un réseau de compétences, afin de répondre aux besoins des ETIOs concernés. Le savoir-faire qui sera transmis pourra être mis à profit pour la surveillance et le contrôle d'autres espèces vectorielles, notamment les espèces impliquées dans la transmission de la filariose lymphatique. A travers ce programme, l'amélioration des connaissances sur la résistance aux insecticides, la structuration génétique des populations, et la compétence vectorielle d'*Ae. aegypti* permettront de mieux guider les autorités sanitaires des pays concernés, dans la mise en place de stratégies de lutte anti-vectorielle adaptées à « la réalité du terrain ». Cette étude des relations climat/moustique/épidémies contribuera par ailleurs à la définition d'indicateurs de risque épidémique propres à chaque pays.

16 - Evaluation d'une stratégie d'auto-dissémination du pyriproxifène pour la lutte contre le moustique *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) en Nouvelle-Calédonie.

Chercheur principal : J.P. GRANGEON (DASS-NC)

Chercheur IPNC : L. Guillaumot.

Collaborations nationales : H. Martin-Herrou, M. Daures, J. Thiria (DASS-Nouvelle-Calédonie), K. Lucien (Ville de Nouméa)

Budget du projet : 46 244 €, soit 5 518 348 XPF Gouvernement de Nouvelle-Calédonie

Echéancier : Début : juillet 2012 - Fin prévue : décembre 2014

Contexte :

En l'absence de traitement spécifique et de vaccin opérationnel, les actions de lutte anti-vectorielle des autorités sanitaires de Nouvelle-Calédonie contre la dengue et le chikungunya, reposent sur des actions de lutte contre les populations adultes et les populations immatures des moustiques vecteurs. Ces actions se heurtent à de nombreux obstacles : insuffisance du respect des consignes de prévention par les habitants, proportion de résidents absents lors du passage des agents de prévention, existence de gîtes larvaires indétectables qui échappent à la destruction, résistance aux insecticides, comportement endophile des moustiques adultes les mettant à l'abri des nébulisations d'insecticides. La recherche de stratégies alternatives est donc une priorité.

Une technique novatrice, dite « d'auto-dissémination », consiste à attirer les vecteurs adultes dans des stations de dissémination où ils sont mis en contact avec une formulation adéquate d'un Régulateur de Croissance des Insectes (RCI), le pyriproxifène (PPF). Ce produit, actif à des doses infinitésimales et sans effet sur les insectes adultes, est ensuite transporté par les moustiques eux-mêmes vers les gîtes larvaires dont il contamine l'eau, inhibant l'émergence de nouveaux vecteurs.

Objectifs principaux :

L'objectif général de ce projet est d'évaluer dans les conditions de la Nouvelle-Calédonie la stratégie d'auto-dissémination de pyriproxifène pour le contrôle d'*Aedes aegypti*. Les objectifs spécifiques sont :

- Évaluer le niveau de sensibilité au PPF des populations locales d'*Ae. aegypti* en Nouvelle-Calédonie, et déterminer la concentration-seuil à partir de laquelle l'émergence des moustiques est inhibée (phase I) ;
- Déterminer le modèle de station de dissémination le plus adapté, évaluer en milieu contrôlé l'aptitude des moustiques à assurer la dissémination du PPF vers des récipients non traités (phase II) ;
- Évaluer l'impact de la stratégie en conditions de terrain sur les populations sauvages d'*Ae. aegypti* en milieu urbain en Nouvelle-Calédonie (phase III).

Méthodologie :

Le projet doit se dérouler sur 3 phases, les méthodologies sont les suivantes :

- Phase I : essais en laboratoire, tests en gobelets de l'effet du produit sur des immatures d'*Ae. aegypti* issus d'une population locale, et d'une souche de référence sensible.
- Phase II : essais en laboratoire et en plein air en conditions contrôlées. Tests comparatifs de pièges à moustiques de type BG Sentinel® modifiés, et de pièges-pondeurs revêtus d'une toile enduite de poudre de PPF. Mesures de l'effet sur des larves en gobelets du transfert de PPF par des femelles *Ae. aegypti* mises en présence de ces stations de dissémination, le tout à l'intérieur d'une enceinte sous moustiquaire.
- Phase III : essais en conditions naturelles. Suite à la mise en œuvre de stations de dissémination dans un quartier de Nouméa, évaluation du transfert de PPF par les moustiques sauvages, et mesure de l'impact de ce transfert sur la densité vectorielle dans la zone étudiée.

Résultats préliminaires :

Un entomologiste a été recruté. Les tests de la phase I, à confirmer, indiquent un différentiel de sensibilité entre les deux souches d'*Ae. aegypti* testées

Les premiers résultats de la phase II, en cours de vérification, suggèrent une dissémination du PPF insuffisante avec le piège de type BG Sentinel®.

Des piégeages de moustiques ont lieu en routine dans deux quartiers de Nouméa, afin de déterminer la densité vectorielle naturelle en prévision de la phase III.

Conclusion et perspectives :

En cas de succès, la stratégie d'auto-dissémination de pyriproxifène, intégrée à d'autres actions de prévention (éducation sanitaire, campagnes de sensibilisation...) pourrait contribuer au maintien d'une densité vectorielle, suffisamment faible pour que la transmission des arbovirus soit interrompue.

Pour plus d'informations, contacter Laurent GUILLAUMOT : lguillaumot@pasteur.nc

17 - Etude de l'influence de la température sur l'expression et l'activité des enzymes de détoxification des insecticides et conséquences sur la résistance chez *Aedes aegypti*.

Chercheur principal : I. DUSFOUR (Institut Pasteur de la Guyane)

Chercheur IPNC : L. GUILLAUMOT

Collaborations nationales : C. RAMDINI, (DSDS de la Guadeloupe).

Collaborations internationales : C ROBELLO , P. ZORRILLA (Institut Pasteur de Montevideo), C. STRODE (Liverpool School of Tropical Medicine)

Budget du projet : 49 651,80, soit 5 923 459 XPF
Actions Concertées Inter Pasteuriennes (ACIP)

Echéancier : Début : septembre 2010 - Fin prévue : août 2013

Contexte :

Le moustique *Aedes aegypti* est le vecteur principal de nombre d'arboviroses dont la dengue et le chikungunya, pour lesquels n'existent ni vaccin ni traitement. Le contrôle de ces maladies dépend donc entièrement de la capacité des communautés à lutter contre cet insecte, ce qui implique, en bien des cas, l'utilisation d'insecticides. Cependant, l'efficacité de ces produits est de plus en plus mise en échec par le développement de phénomènes de résistance. Parmi les causes de cette résistance se trouvent l'altération des cibles de l'insecticide tels que les canaux sodium voltage-dépendants (mutations *kdr*), et la surproduction d'enzymes de détoxification (résistance métabolique). Récemment, de nouveaux outils tels que la puce à ADN « *Aedes* détox chip » ont permis d'identifier des gènes de détoxification potentiellement impliqués dans la résistance métabolique aux insecticides, et ont mis en lumière le rôle des facteurs abiotiques naturels et anthropiques qui peuvent diversifier et influencer sur l'expression des gènes de détoxification. Cependant, les études examinant les répercussions des facteurs abiotiques sur la résistance métabolique sont encore rares.

Objectifs principaux :

Ce projet vise à étudier l'influence de la température - un important facteur abiotique - sur la résistance métabolique d'*Aedes aegypti* aux insecticides pyréthrinoides, et à répondre à trois questions principales :

- 1) Quels sont les mécanismes impliqués dans la résistance aux insecticides chez des populations d'*Aedes aegypti* provenant de régions différentes du point de vue environnemental et climatique ?
- 2) Dans quelle mesure la température peut-elle affecter la surexpression des gènes de détoxification ?
- 3) Y a-t-il un seuil de température qui induit une réduction ou une augmentation de l'activité enzymatique ?

Ce projet a également pour objectif de mettre en relation des personnes intéressées par tous les aspects de la résistance aux insecticides, à l'intérieur et à l'extérieur du Réseau International des Institut Pasteur.

Méthodologie :

Une approche multidisciplinaire a été choisie pour répondre aux questions ci-dessus.

- Identifier et comparer des modèles d'expression de gènes impliqués dans les mécanismes de résistance chez trois populations sauvages d'*Ae. aegypti* (Guadeloupe, Nouvelle-Calédonie et Guyane Française), et une souche sensible de référence (Paea), par analyse d'expression sur une puce à ADN.
- Séquençage de tout ou partie du gène codant pour les canaux sodium pour déterminer si des mutations de type *kdr* interviennent également dans le profil de résistance de ces populations.
- Après obtention de la ligne de base, les profils d'expression génique de désintoxication sont comparés entre populations d'*Ae. aegypti* élevées à des températures différentes.

- Evaluation des écarts de température qui pourraient influencer l'efficacité de la détoxification et affecter la surveillance de la résistance.

Résultats préliminaires :

Une large surexpression des gènes codant pour la mono oxygénase Cytochrome P450 a été mise en évidence chez les trois populations sauvages. D'autres gènes de détoxification sont également surexprimés, mais à une moindre échelle. La présence de mécanismes complémentaires a été montrée par la sur ou sous-expression de certains gènes liés au système immunitaire. Ces résultats ont été complétés par la mise en évidence de mutations des gènes codants pour les canaux sodium, susceptibles de conférer une résistance aux pyréthriinoïdes.

Les élevages à différentes températures ont permis de dégager des profils de sensibilité différents, tant en ce qui concerne les mortalités obtenues, que l'évolution du temps Kd.

Valorisation actuelle :

Présentation orale :

Dusfour I, Guillaumot L, Ramdini C, Strode C, Robello C., Unravelling insecticide resistance in mosquitoes: combination of field and molecular technology expertise. Second Meeting of the Institut Pasteur International Network Americas Region "Alliance for Molecular Research in Infectious Diseases", Institut Pasteur de Montevideo, Oct. 30, 2012, Montevideo - Uruguay

Conclusion et perspectives :

L'étude de l'influence de la température sur la surexpression des gènes mis en évidence est en cours. Les connaissances attendues doivent apporter une meilleure compréhension des mécanismes de résistance, et une meilleure gestion de cette dernière.

Pour plus d'informations, contacter Laurent GUILLAUMOT : lguillaumot@pasteur.nc

Rhumatisme articulaire aigu : 3 projets

18 - Etudes épidémiologique, clinique et moléculaire des infections à streptocoques bêta-hémolytiques du groupe A, Nouvelle-Calédonie

Chercheurs principaux : E. D'ORTENZIO (URE-EMI, IPNC) et N. BAROUX (URE-EMI, IPNC)

Autres chercheurs ou collaborateurs : S.MERMOND (Hématologie, IPNC), M. DUPONT-ROUZEYROL (URE-DA, IPNC), N.AMEDEO (LBM, IPNC), S. TARDIEU (Centre Hospitalier Nord), I. MISSOTTE (CHT de Nouvelle-Calédonie), A. STEER et P. SMEESTERS (Université de Melbourne).

Collaborations locales : Centre Hospitalier Territorial de Nouvelle-Calédonie et Centre Hospitalier Nord

Collaborations internationales : Murdoch Children's Research Institute, The Royal Children's Hospital, Melbourne, Australia

Budget du projet : 5000 €, soit 6 000 000 FCFP

Echéancier : Début : janvier 2012 - Fin : 2013

Contexte :

Les streptocoques bêta-hémolytiques du groupe A (SGA) sont responsables d'un grand nombre d'infections non invasives, invasives, toxiques et de séquelles post-infectieuses (dont le rhumatisme articulaire aigu). Certaines souches de SGA sont particulièrement virulentes. La protéine M de surface a un rôle dans l'adhérence des streptocoques et dans l'inhibition de la phagocytose. Plus de 150 types différents de protéine M (*emm*-types) ont été identifiés. Il n'existe pas aujourd'hui de vaccin contre les infections à SGA. Cependant, des études de candidats vaccins utilisant plusieurs antigènes sont en cours. Une étude réalisée sur la distribution des souches de SGA en NC, parmi les infections invasives en 2006, a montré une circulation de souches différentes de celles retrouvées dans le vaccin 26-valent, et une forte incidence des maladies invasives à SGA estimée à 38 cas pour 100 000 habitants.

Objectifs principaux : Etudier la distribution des souches de SGA responsables d'infections invasives et non invasives en Nouvelle-Calédonie en 2012.

Méthodologie : Il s'agit d'une étude microbiologique et épidémiologique prospective observationnelle non-interventionnelle basée sur une surveillance passive. Tout prélèvement bactériologique réalisé chez un adulte ou un enfant entre le 1er janvier et le 31 décembre 2012 par un service hospitalier du Centre Hospitalier Territorial (CHT), du Centre Hospitalier Spécialisé (CHS), ou du Centre Hospitalier du Nord (CHN), et pour lequel un SGA a été isolé par le laboratoire de bactériologie de l'IPNC ou du CHN, a été collecté et envoyé à l'Université de Melbourne pour typage. Les dossiers médicaux consultés fournissent des informations sur le prélèvement, le diagnostic et les antécédents médicaux à partir d'un questionnaire standardisé.

Résultats finaux : Parmi les 345 souches de SGA envoyées pour typage, 54 provenaient d'infections invasives confirmées incluant 7 décès, 67 d'infections probablement invasives dont un décès et 191 d'infections non-invasives. L'incidence des infections invasives à SGA était de 22/100 000 avec un taux de mortalité de 13% ; on note un pic d'incidence à 111/100 000 chez les plus de 65 ans. Parmi les 335 SGA typables, 85 (25%) avaient un *emm*-type inclus dans le vaccin 30-valent et 165 (49%) un *emm*-type supposé couvert par ce vaccin 30-valent, en prenant en compte l'immunité croisée entre *emm*-types.

Valorisation actuelle :

Amedeo N. (2013) Infections à Streptocoque du Groupe A: diversité clinique et moléculaire en Nouvelle-Calédonie, 2012. Thèse de pharmacie de l'université François Rabelais, Tours, France. Publication en préparation.

Conclusion et perspectives :

En Nouvelle-Calédonie, le poids de morbidité des infections à SGA et leur taux de mortalité sont élevés. Cette morbidité, mortalité et l'épidémiologie moléculaire sont proches de ce qui a déjà été décrit dans le Pacifique, avec quelques particularités. Cette étude n'a pas apporté de preuve formelle de l'efficacité du vaccin 30-valent dans le contexte calédonien. Néanmoins, la plupart des SGA impliqués dans des infections à l'issue fatale de notre étude sont couverts par ce vaccin. Cette étude a apporté des données importantes pour le développement d'un vaccin contre les SGA.

19 - Revue systématique de la littérature des souches de streptocoque du groupe A probablement rhumatogènes

Chercheur principal : N. BAROUX (URE-EMI, IPNC)

Autres chercheurs : E. D'ORTENZIO (URE-EMI, IPNC), P. SMEESTERS et A. STEER (Université de Melbourne)

Collaboration internationale : Université de Melbourne

Promoteur : IPNC

Budget du projet : 8 333 €, soit 1 000 000 FCFP

Echéancier : Début : décembre 2012 - Fin : 2013

Contexte : Certaines souches de SGA sont dites rhumatogènes, c'est-à-dire susceptibles de conduire à l'installation d'un rhumatisme articulaire aigu (RAA) chez les patients porteurs. La classification des souches se fait par le typage du gène *emm* codant la protéine M de surface, impliquée dans l'adhérence des streptocoques, ainsi que dans l'inhibition de la phagocytose. Actuellement, la mise en cause de certaines souches de SGA dans le rhumatisme articulaire aigu (RAA) est basée sur des liens épidémiologiques, lors d'épidémies de RAA (majoritairement survenues aux Etats-Unis entre 1950 et 2000). La dernière revue de littérature recensant les souches impliquées dans le RAA a été réalisée en 1980 par A. Bisno. Toutefois, la question demeure de savoir si le caractère rhumatogène ne peut pas être retrouvé avec tous les *emm*-types retrouvés dans les différentes souches de SGA.

Objectifs principaux : décrire les souches de SGA mises en cause dans le RAA et leur *emm*-type.

Méthodologie : Nous avons cherché les articles scientifiques publiés entre le 1^{er} janvier 1944 (date des critères de Jones, diagnostic du RAA) et le 31 décembre 2012, dans la base de données PubMed. Les titres et résumés ont été examinés et évalués. Les articles rapportant des *emm*-types de SGA isolés chez des patients atteints de RAA ont été sélectionnés.

Résultats finaux : Ces recherches ont conduit à une présélection de plus de 400 articles. Après analyse, 30 articles ont été inclus et les publications complètes ont été examinées, l'analyse a fait l'objet d'une synthèse. Dans le cadre de la collaboration avec l'université de Melbourne, ces résultats ont également été ré-analysés avec une nouvelle classification des *emm*-types en cours de développement.

Valorisation actuelle : publication en cours

Conclusion et perspectives :

Il semble qu'un plus grand nombre d'*emm*-types de SGA sont impliqués dans le RAA que ceux habituellement cités dans la littérature scientifique. Ce résultat soulèvera le problème de la diversité des *emm*-type impliqués dans le RAA, notamment dans un contexte de développement de vaccin à valences prédéfinies.

20 - Etude de la susceptibilité génétique aux infections invasives à Streptocoque du Groupe A dans le Pacifique : Nouvelle-Calédonie

Investigateur principal Dr T. PARKS
University of Oxford Roosevelt, Drive, Oxford, OX3 7BN, UK

Co-Investigateur Pr D. BAUDON, N. BAROUX, J. COLOT
Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

Objectifs

L'objectif principal du projet est d'identifier des variants génétiques comme facteur de risque de survenue des infections invasives à SGA.

L'objectif secondaire est de comparer les variants génétiques conférant une susceptibilité aux différentes infections à SGA.

Population concernée celle de la Nouvelle-Calédonie

La population-cible regroupe tous les individus ayant eu une infection invasive à SGA en Nouvelle-Calédonie.

La population-source regroupe tous les individus vivant en 2013 en Nouvelle-Calédonie, répondant à la définition de cas et ayant eu un prélèvement dans un site normalement stérile et positif au SGA, ou une fasciite nécrosante à SGA, et s'étant présenté au Centre Hospitalier Territorial de Nouvelle-Calédonie (CHT) entre janvier 2006 et juillet 2014.

Mode de circulation des données

Recueil des données

A chaque patient inclus, un questionnaire standardisé (annexe 1) sera rempli par l'équipe de recherche de l'IPNC, qui devra veiller à l'exactitude des données collectées. Un numéro unique figurera en début de questionnaire et sur le tube de salive, le nom du patient n'y apparaîtra pas. Les questionnaires seront centralisés à l'IPNC dans un local sécurisé.

Envoi des échantillons

Les échantillons recueillis seront transférés à l'Université d'Oxford (Welcome Trust Centre, Royaume Uni) pour analyse génétique et conservés en duplicat à l'IPNC.

Saisie informatique et traitement des données

Les informations collectées seront saisies par l'IPNC qui enverra, à la fin de l'étude, la base de données anonymisée à l'équipe de recherche de l'Université d'Oxford. Aucune donnée nominative ne sera saisie. L'université d'Oxford est responsable du traitement des données.

Analyse génétique

Brièvement, nous allons utiliser une combinaison des techniques d'association à grande échelle (GWAS, Genome-Wide Association Studies) et de nouvelle génération de séquençage. Nous ajusterons sur les potentiels facteurs de confusion liés à la non connaissance de la structure génétique de base de la population, à l'aide de la comparaison entre nos échantillons et les génomes complets des 1000 « Genomes Consortium » disponibles par le panel de référence Fijian iTaukei. Nous utiliserons l'imputation pour calculer la fréquence des allèles situées à des positions qui ne seront pas directement génotypées ou séquencées.

Calendrier prévisionnel

Le protocole a été validé par le Pôle intégré de Recherche Clinique de l'Institut Pasteur de Paris (PIRC), par la Commission Recherche et au Comité d'Ethique du CHT, par le Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre-Mer III et le Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé (CCTIRS). Il reste à obtenir l'agrément de la Commission Nationale Informatique et Liberté (CNIL) pour la base de données de l'étude.

- 2ème semestre 2014 : début de l'étude, recueil des données et
- Juillet 2014 : fin d'étude .

Autre projet de recherche : 1 projet

21 - Bio-prospection et biodiversité de micro-organismes des milieux extrêmes des lagons de la Nouvelle-Calédonie

Coordinateur : M. DUPONT-ROUZEYROL, IPNC - C. SIMON-COLIN, Ifremer

Chercheur IPNC : E. Chalkiadakis (Doctorant : IPNC et Ifremer)

Collaborations nationales : Ifremer, Laboratoire Biotechnologies Molécules Marines (Brest) et LEAD (Nouvelle-Calédonie), BIODIMAR, Université de la Nouvelle-Calédonie

Budget du projet : Phase 1 : 25 000 € Phase 2 : 20 000 €, soit 2 400 000 FCFP
Ministère de l'Outre-Mer (2009-2011 et 2012-2014)

Echéancier : juillet 2009 - juillet 2014

Contexte :

Les microorganismes marins (bactéries et micro-algues) représentent la plus grande part de vie dans les océans, mais on estime que 99% d'entre eux sont encore à découvrir. Or, les avancées dans le domaine de la biologie moléculaire et de microbiologie rendent désormais possibles l'étude et l'utilisation de ces microorganismes marins. Négligés jusqu'à présent, ces organismes pourraient donc bien être le principal gisement de nouvelles molécules des prochaines décennies.

La diversité des milieux et des habitats marins se reflète dans la diversité des organismes et de leurs métabolites. L'exploration des écosystèmes atypiques (sédiments des fonds sous-marins, les lagunes hyper salines, tapis microbiens, etc...) a permis la découverte de microorganismes qui, en réponse à des conditions environnementales extrêmes, ont développé au cours de l'évolution, des moyens d'adaptation nécessaires à leur survie et leur prolifération. Ce projet biotechnologique sur les bactéries « extrémophiles » a pour objectif de rechercher des biomolécules d'intérêt que sont les exo polysaccharides (EPS) et les poly hydroxy-alcanoates (PHA). Ces biopolymères marins ont montré leur potentiel de valorisation dans les domaines de l'environnement, l'alimentation, la cosmétique, la santé, etc.

La Nouvelle-Calédonie est dotée d'un ensemble d'atouts pour ce projet : milieux naturels littoraux, côtiers et marins au sein desquels existent des gradients thermiques, d'hypersalure/dessalure, de chocs UV, de PH, d'évaporation, d'inondation/exondation, déterminant des habitats atypiques dans lesquels les micro-organismes doivent développer des stratégies adaptatives et de défense potentiellement uniques.

Objectifs principaux :

Les objectifs de ce projet sont les suivants :

- Création d'une collection de microorganismes calédoniens,
- Criblage et identification de biopolymères d'intérêt biotechnologique,
- Valorisation des biopolymères.

Méthodologie :

Campagne de prélèvements, isolation bactérienne, criblage de l'activité EPS, PHA ou antibiotique, caractérisation des souches d'intérêt et des biopolymères produits.

Résultats :

Deux campagnes de prospection, réalisées en avril 2010 et 2011, ont abouti à la collection de près de 770 isolats bactériens. Ces bactéries ont été obtenues à partir de prélèvements divers (sédiments, algues, biofilms, invertébrés, crustacés...) récoltés principalement sur des plateaux coralliens découvrants, des tannes salées, des mangroves, des embouchures de rivières, ... Le criblage de cette collection a permis d'identifier que plus de la moitié des souches de la collection produisaient des EPS, dont plus de 5% pouvaient être considérées comme des souches hautement productrices. Le criblage a mis en évidence une souche productrice de PHA de type élastomérique (PHA à moyenne chaîne, PHA mcl), et un nombre plus important de souches capables de synthétiser des PHA à courte chaîne (PHA scl), plus cristallins. Concernant les souches productrices d'EPS,

les 43 souches les plus intéressantes en terme de rendement de production ont été sélectionnées et étudiées, afin d'optimiser leurs conditions de culture en fermenteur. Sur ces 43 souches, 15 EPS ont été produits et caractérisés d'un point de vue de la composition globale. Les premières analyses indiquent des compositions chimiques intéressantes, suggérant des applications dans des secteurs industriels tels que la cosmétique ou encore le secteur minier pour leur potentiel de chélation des métaux lourds.

Valorisation actuelle :

Publications:

Chalkiadakis E, Dufourcq R, Schmitt S, Brandily C, Kervarec N, Coatanea D, Amir H, Loubersac L, Chanteau S, Guezennec J, Dupont-Rouzeyrol M, Simon-Colin C. (2013) Partial characterization of an exopolysaccharide secreted by a marine bacterium, *Vibrio neocaledonicus* sp. nov., from New Caledonia. *J Appl Microbiol.* **114**:1702-12.

Dufourcq R, Chalkiadakis E, Fauchon M, Deslandes E, Kerjean V, Chanteau S, Petit E, Guezennec J, Dupont-Rouzeyrol M. (2014) Isolation and partial characterization of bacteria (*Pseudoalteromonas* sp.) with potential antibacterial activity from a marine coastal environment from New Caledonia. *Lett Appl Microbiol.* **58**:102-8.

Communications:

Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C. Production and Characterization of nature polymers from marine bacteria of New Caledonia. *Polychar 21 : World Forum on Advanced Materials*, March 2013, Gwangju, South Korea.

Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C. Caractérisation et Valorisation biotechnologique des polysaccharides produits par des bactéries issues des milieux intertidaux atypique de Nouvelle-Calédonie. *Glucidoc*, avril 2013, Aber Wrac'h - Landéda, France.

Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C. La Biotechnologie : un outil de valorisation du patrimoine marin en Nouvelle-Calédonie . *Séminaire Province Nord*, juin 2013, Poindimié, Nouvelle-Calédonie.

Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C. Bio-prospection et biodiversité des micro-organismes des milieux extrêmes des lagons de la Nouvelle-Calédonie. Doctoriales de l'Université de la Nouvelle-Calédonie, octobre 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Chalkiadakis E. Création d'une start'up : retour sur le concours OSEO. Doctoriales de l'Université de la Nouvelle-Calédonie, octobre 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Chalkiadakis E. Bio-prospection et biodiversité des micro-organismes des milieux extrêmes des lagons de la Nouvelle-Calédonie. Premières évaluations du potentiel de production de nouvelles molécules d'intérêt biotechnologique. Soutenance de thèse, Université de la Nouvelle-Calédonie, décembre 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie

Prix :

Eleftherios Chalkiadakis, lauréat du concours OSEO (Concours National d'Aide la Création d'Entreprise de Technologies Innovantes) 2013, section « Emergence ».

Conclusion et perspectives :

Les biotechnologies dites bleues sont au carrefour de toutes les autres biotechnologies (santé, industries, agro-alimentaire et environnement), et l'attente est forte vis-à-vis de la mise en évidence de nouvelles molécules issues du milieu marin. Les bactéries calédoniennes ont déjà prouvé leurs capacités à produire des biopolymères. Les applications de ces biopolymères se situent à la fois dans le court terme (cosmétique, environnement...), ou dans le plus long terme (santé), et sont à préciser. 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, ce que souhaite mettre en œuvre E. Chalkiadakis, récipiendaire du prix OSEO, en intégrant le futur « Incubateur » de la Nouvelle-Calédonie avec le soutien de l'ADECAL.

IV – Valorisation scientifique en 2013

15 Publications dans des journaux internationaux à comité de lecture
12 Communications, dont 4 posters, dans des congrès internationaux
6 publications sous presse

Publications dans des journaux internationaux à comité de lecture : 14 articles parus en 2013

1. Aleksic E, Merker M, Cox H, Reiher B, Sekawi Z, Hearps AC, Ryan CE, Lee AV, Goursaud R, Malau C, O'Connor J, Cherry CL, Niemann S, Crowe SM. (2013). First molecular epidemiology study of *Mycobacterium tuberculosis* in Kiribati. *PLoS One* 8(1):e55423.
2. Baroux N, Rouchon B, Huon B, Germain A, Meunier JM, D'Ortenzio E. (2013). High prevalence of rheumatic heart disease in schoolchildren detected by echocardiography screening in New Caledonia. *Journal of Paediatrics and Child Health* 49:109-114.
3. Barthel A, Gourinat AC, Cazorla C, Joubert C, Dupont-Rouzeyrol M, Descloux E. (2013). Breast milk as a possible route of vertical transmission of dengue virus? *Clin Infect Dis*. 57(3):415-7.
4. Belkacem A, Caumes E, Ouanich J, Jarlier V, Dellion S, Cazenave B, Goursaud R, Lacassin F, Breuil J, Patey O; Working Group FRA-DGI. (2013). Changing patterns of disseminated gonococcal infection in France: cross-sectional data 2009-2011. *Sex Transm Infect*. 89(8):613-5.
5. Chalkiadakis E, Dufourcq R, Schmitt S, Brandily C, Kervarec N, Coatanea D, Amir H, Loubersac L, Chanteau S, Guezennec J, Dupont-Rouzeyrol M, Simon-Colin C. (2013). Partial characterization of an exopolysaccharide secreted by a marine bacterium, *Vibrio neocaledonicus* sp. nov., from New Caledonia. *J Appl Microbiol*. 114(6):1702-12.
6. Dufourcq R, Chalkiadakis E, Fauchon M, Deslandes E, Kerjean V, Chanteau S, Petit E, Guezennec J, Dupont-Rouzeyrol M. (2014) - Isolation and partial characterization of bacteria (*Pseudoalteromonas* sp.) with potential antibacterial activity from a marine coastal environment from New Caledonia. *Lett Appl Microbiol*58: 102-108.
7. Gasse B, Baroux N, Rouchon B, Meunier JM, de Frémicourt I, D'Ortenzio E. (2013). Determinants of poor adherence to secondary antibiotic prophylaxis for rheumatic fever recurrence on Lifou, New Caledonia: a retrospective cohort study. *BMC Public Health*. 13(1):131.
8. Goarant C, Bourhy P, D'Ortenzio E, Dartevelle S, Mauron C, Soupe-Gilbert M-E, Bruyère-Ostells L, Gourinat A-C, Picardeau M, Nato F, Chanteau S. (2013). Sensitivity and specificity of a new Vertical Flow Rapid Diagnostic Test for the serodiagnosis of human leptospirosis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7:e2289.
9. Guerrier G, Hie P, Gourinat A-C, Huguon E, Polfrit Y, Goarant C, D'Ortenzio E, Missotte I. (2013). Association between Age and Severity to Leptospirosis in Children. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7:e2436.
10. Guerrier G, Gourinat AC, Ikowsky T, Camus E, Lehmann C, Droetto F. (2013). High syphilis but low HIV prevalence rates among pregnant women in New Caledonia. *Int J STD AIDS*. 24(12):977-979.
11. Guerrier G, D'Ortenzio E. (2013). The Jarisch-Herxheimer Reaction in Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS ONE*. 8(3): e59266.
12. Horwood P, Bande G, Dagina R, Guillaumot G, Aaskov J and Pavlin B. (2013). The threat of chikungunya in Oceania. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 4(2).

13. Leang SK, Deng YM, Shaw R, Caldwell N, Iannello P, Komadina N, Buchy P, Chittaganpitch M, Dwyer DE, Fagan P, Gourinat AC, Hammill F, Horwood PF, Huang QS, Ip PK, Jennings L, Kesson A, Kok T, Kool JL, Levy A, Lin C, Lindsay K, Osman O, Papadakis G, Rahnamal F, Rawlinson W, Redden C, Ridgway J, Sam IC, Svobodova S, Tandoc A, Wickramasinghe G, Williamson J, Wilson N, Yusof MA, Kelso A, Barr IG, Hurt AC. (2013). Influenza antiviral resistance in the Asia-Pacific region during 2011. *Antiviral Res.* 97(2):206-10.
14. Theuerkauf J, Perez J, Taugamo A, Niutoua I, Labrousse D, Gula R, Bogdanowicz W, Jourdan H, Goarant C. (2013). Leptospirosis risk increases with changes in species composition of rat populations. *Naturwissenschaften* 100:385-388.
15. Tubiana S, Mikulski M, Becam J, Lacassin F, Lefèvre P, Gourinat A-C, Goarant C, D'Ortenzio E. (2013). Risk Factors and Predictors of Severe Leptospirosis in New Caledonia. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7:e1991.

Communications 2013

1. Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C. Caractérisation et Valorisation biotechnologique des polysaccharides produits par des bactéries issues des milieux intertidaux atypique de Nouvelle-Calédonie. *Glucidoc*, avril 2013, Aber Wrac'h - Landéda, France.
2. Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C; Production and Characterization of nature polymers from marine bacteria of New Caledonia; Polychar 21 : World Forum on Advanced Materials, March 2013, Gwangju, South Korea.
3. Matsui M, Soupé-Gilbert ME, Roche L, Moniquet V, Roudier M, Goarant C. 2013. Renal pathophysiology during chronic leptospirosis depending on animal models. In International Leptospirosis Society (ed.), annual conference. October 2013, Fukuoka, Japan.
4. Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C. La Biotechnologie : un outil de valorisation du patrimoine marin en Nouvelle-Calédonie. Séminaire Province Nord de Nouvelle-Calédonie Quelles recherches scientifiques en Province Nord ? - Poindimié 19-21 juin 2013.
5. Baudon D. L'institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie. Séminaire Province Nord de Nouvelle-Calédonie Quelles recherches scientifiques en Province Nord ? - Poindimié 19-21 juin 2013
6. Chalkiadakis E. Bio-prospection et biodiversité des micro-organismes des milieux extrêmes des lagons de la Nouvelle-Calédonie. Premières évaluations du potentiel de production de nouvelles molécules d'intérêt biotechnologique. Soutenance de thèse, Université de la Nouvelle-Calédonie, décembre 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie
7. Chalkiadakis E, Dupont-Rouzeyrol M, Amir H, Guezennec J, Simon-Colin C. Bio-prospection et biodiversité des micro-organismes des milieux extrêmes des lagons de la Nouvelle-Calédonie. Doctoriales de l'Université de la Nouvelle-Calédonie, octobre 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.
8. Chalkiadakis E. Création d'une start'up : retour sur le concours OSEO. Doctoriales de l'Université de la Nouvelle-Calédonie, octobre 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.
9. O'Connor O, Dupont-Rouzeyrol M. Epidémiologie moléculaire des virus de la dengue de type I circulant en Nouvelle-Calédonie entre 2001 et 2012. Atelier Phylogénie IAC, Mars 2013, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Posters 2013

1. D'Ortenzio E, Baroux N, Rouchon B. Ethnic disparities in the risk of rheumatic heart disease among schoolchildren in New Caledonia: a case-control study. Poster 6th World Congress of Paediatric Cardiology and Cardiac Surgery. Feb 2013, Cape Town, South Africa.
2. Dusfour I, Zorrilla P, Guillaumot L, Issaly J, Robello C StrodeC. 2013. Investigation of detoxification gene profiles in deltamethrin resistant *Aedes aegypti* populations from distinct geographical origins. ASTMH 62nd annual meeting, Washington, DC, USA.

3. Eshghi A, Becam J, Goarant C, Picardeau M. 2013. A regulatory genetic locus modulates *Leptospira* virulence. In International Leptospirosis Society (ed.), Annual conference October 2013, Fukuoka, Japan.
4. Guerrier G, Hie P, Gourinat AC, Goarant C, D'Ortenzio E, Missotte I. 2013. Association between age and severity to leptospirosis in children. ASTMH 62nd annual meeting, Washington, DC, USA.

Participation à des Congrès, ateliers, séminaires, réunions hors NC : 14 pour 7 scientifiques

MEMOIRE DE THESE

Nathalie Amédéo : « Infections à Streptocoque du Groupe A : diversité clinique et moléculaire en Nouvelle-Calédonie, 0212 ». Mémoire de doctorat de Pharmacie, DES de Biologie Médicale. Soutenu le 05 novembre 2013.

Communication « Grand Public » en Nouvelle-Calédonie

Fêtes, réunions grand public

- Fête de la Nature de l'association « Mon Caillou, Ma Nature », à Fort Tereka (Nouméa), le 25/05/2013
Guillaumot L. Tenue d'un stand « Moustiques et transmission des maladies ».
- Intervention et sensibilisation aux métiers de la recherche, Collège de Boulari, Mont Dore, Nouvelle-Calédonie. 13 septembre 2013. Matsui M. « Qu'est-ce que le métier de chercheur ? ».
- Participation à la Fête de la Science en Nouvelle-Calédonie, Edition 2013.
« Village des sciences » en Province Nord (Collège de Ouégoa), Province des Îles (Collège de Wé) et Province Sud (Collège de Boulari) et organisation de visites scolaires lors des « journées portes-ouvertes », 26 septembre au 5 octobre 2013.
O'Connor O. « Connaissez-vous la dengue et son vecteur, le moustique, en Nouvelle-Calédonie ». Présentation lors de la Fête de la Science Edition 2013, Collège L. Boula, Wé, Lifou, Nouvelle-Calédonie. 26 septembre 2013

Télévision

- M. Dupont-Rouzeyrol : NC 1^{ère}
Invitée du Journal TV de 19h30 - Mars 2013
Thématique : Epidémie de Dengue de 2013

Reportage/Interview pour le Journal TV de 19h30 - Novembre 2013
Thématique : Journée Scientifique de l'IPNC, orientation Arboviroses
- M. Dupont-Rouzeyrol : TV NC
Reportage/Interview pour le magazine les Coulisses de la Science - Novembre 2013
Thématique: Dengue et *Aedes aegypti*
- E. Calvez : NC 1^{ère}
Reportage/Images pour le Journal TV de 19h30 - Octobre 2013
Thématique : Fête de la Science

Presse écrite

- E. Chalkiadakis
Interview Les Nouvelles Calédoniennes - Août 2013 – Objet : Prix OSEO/Bioprospection
Interview Info Sud - Août 2013 – Objet : Prix OSEO/Bioprospection

Journal à destination des professionnels de santé

Dupont-Rouzeyrol M, Laqere P, Rama V, Tuangalu U, Cao-Lormeau VM, Mathieu-Daudé F, Mangeas M, Bossin H, Menkes C, Gourinat AC, Teurlai M, Descloux E, Pfannstiel A, Sakuntabhai A, Roth A, Souares Y, Hales S, Guillaumot L. 2013 AeDenPac: The *Aedes aegypti* Mosquito - A Dengue and Chikungunya Fever Vector in the Pacific. *Inform'Action*. Special Issue « Climate change and Health », August 2013

Première Journée scientifique internationale de l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie

La « **Première Journée scientifique internationale** » s'est tenue à Nouméa le 21 novembre 2013 sur le thème : «Arboviroses et leptospirose : réservoirs, vecteurs et maladies humaines ».

Cette journée, qui a bénéficié du soutien financier du Gouvernement de Nouvelle-Calédonie et de la Province Sud, a été l'occasion de réunir une centaine de personnes autour de 22 communications scientifiques, dont 8 par des scientifiques de l'IPNC, montrant les interrelations Recherche, Santé publique et clinique.

Trois éminents chercheurs ont participé à cette Journée : les Professeurs John Askov (WHO Coll. Centre for Arbovirus Ref. and Research Australia), Ben Adler (Monash University Australia) et Vincent Deubel (IP Cambodge).

La liste des sessions et communications est donnée ci-dessous

Conférence inaugurale: « Réservoir, Vecteur, et endémies humaines », Pr Dominique BAUDON (IPNC)

Session 1 - Animaux et maladies humaines

- Chasse aux pathogènes émergents au Cambodge visant «Une seule santé »,
Pr Vincent DEUBEL (Directeur IP Cambodge)
- Les moustiques de l'Océan: vecteurs et non-vecteurs dans le Pacifique, connaissances, menaces et interrogations,
Laurent GUILLAUMOT (IPNC)
- Risque d'émergence d'arboviroses en Nouvelle-Calédonie, Thomas HUE (IAC-SCPS)
- Animaux réservoirs de la leptospirose, Cyrille GOARANT (IPNC)
- Passé, présent et futur de la lutte anti-vectorielle, Laurent GUILLAUMOT (IPNC)

Session 2 - Arboviroses et leptospirose : diagnostiquer et soigner

- Le diagnostic des arboviroses et des leptospiroses à l'IPNC : le bon test au bon moment,
Ann-Claire GOURINAT (IPNC)
- Critères d'hospitalisation des dengues en période épidémique au CHT Gaston Bourret,
Flore LACASSIN (CHT)
- Syndrome de Guillain Barré à la phase aiguë d'une infection par le virus de la dengue,
Olivier SIMON (CHT)
- Prise en charge des leptospiroses graves en réanimation, Marc MIKULSKI (CHT)
- Contextualizing the Burden of Disease in the Pacific Islands: the case of dengue, Damian HOY (CPS)
- Risque de transmission du virus de la Dengue de la mère à l'enfant en période périnatale et au cours de l'allaitement, Elodie DESCLOUX (CHT)

Session 3 - Arboviroses : Recherche et santé publique

- Arboviral diseases research, Pr John AASKOV (WHO Coll. Centre for Arbovirus Réf. and Research Australia)
- Etude de la distribution spatiale des cas de dengue en Nouvelle-Calédonie : impact du climat présent et futur,
Magali TEURLAI (IRD)
- Résistance aux insecticides dans les populations d'Aedes aegypti de Nouvelle-Calédonie : quel avenir pour la lutte anti-vectorielle ? Françoise MATHIEU-DAUDE (IRD)
- Modélisation d'un risque hebdomadaire d'émergence ou de réémergence de la dengue en Nouvelle-Calédonie basé sur le climat et estimation de son évolution à l'horizon 2050-2100, Morgan MANGEAS (IRD)
- Arbovirus, Epidémies et Epidémiologie moléculaire en NC (et dans le Pacifique),
Myrielle DUPONT-ROUZEYROL (IPNC)
- Description clinique de l'épidémie de dengue survenue en 2012-2013 en Nouvelle-Calédonie,
Maguy DAURES (DASS Nouvelle-Calédonie)

Session 4 - Leptospirose : Recherche et santé publique

- Major advances in leptospirosis research in the past 10 years, Pr Ben ADLER (Monash University Australia)
- Apports des modèles expérimentaux in vivo à la compréhension de la physiopathologie de la leptospirose,
Mariko MATSUI (IPNC)
- Leptospirose : à la poursuite du réservoir inconnu, Noellie GAY (IPNC)

V- Résumés des publications 2013 de l'IPNC dans des journaux internationaux à comité de lecture

Aleksic E, Merker M, Cox H, Reiher B, Sekawi Z, Hearps AC, Ryan CE, Lee AV, Goursaud R, Malau C, O'Connor J, Cherry CL, Niemann S, Crowe SM. (2013). First molecular epidemiology study of *Mycobacterium tuberculosis* in Kiribati. **PLoS One** 8(1):e55423.

Tuberculosis incidence rates in Kiribati are among the highest in the Western Pacific Region, however the genetic diversity of circulating *Mycobacterium tuberculosis* complex strains (MTBC) and transmission dynamics are unknown. Here, we analysed MTBC strains isolated from culture positive pulmonary tuberculosis (TB) cases from the main TB referral centre between November 2007 and October 2009. Strain genotyping (IS6110 typing, spoligotyping, 24-loci MIRU-VNTR and SNP typing) was performed and demographic information collected. Among 73 MTBC strains analysed, we identified seven phylogenetic lineages, dominated by Beijing strains (49%). Beijing strains were further differentiated in two main branches, Beijing-A (n=8) and -B (n=28), that show distinct genotyping patterns and are characterized by specific deletion profiles (Beijing A: only RD105, RD207 deleted; Beijing B: RD150 and RD181 additionally deleted). Many Kiribati strains (59% based on IS6110 typing of all strains) occurred in clusters, suggesting ongoing local transmission. Beijing-B strains and over-crowded living conditions were associated with strain clustering (likely recent transmission), however little evidence of anti-tuberculous drug resistance was observed. We suggest enhanced case finding amongst close contacts and continued supervised treatment of all identified cases using standard first-line drugs to reduce TB burden in Kiribati. Beijing strains can be subdivided in different principle branches that might be associated with differential spreading patterns in the population.

Baroux N, Rouchon B, Huon B, Germain A, Meunier JM, D'Ortenzio E. (2013). High prevalence of rheumatic heart disease in schoolchildren detected by echocardiography screening in New Caledonia. **Journal of Paediatrics and Child Health** 49:109-114.

Aim: Despite the well-documented burden of rheumatic heart disease (RHD) in several Pacific countries, the disease is poorly understood in New Caledonia. The aim of this study was to assess the prevalence of RHD detected by echocardiographic screening in school children.

Methods: An annual RHD screening programme is conducted by the Health and Social Agency of New Caledonia for school-aged children in their fourth year of primary school. For the purpose of this study, we used data collected during this echocardiographic screening between 2008 and 2010.

Results: Of 12,728 children screened, 50.2% were male and the mean age was 9.6 ± 0.6 years. Between 2008 and 2010, 114 children had RHD, corresponding to a prevalence of 8.9 cases per 1000 (95% confidence interval (CI) (7.3-10.6)). Prevalence of RHD was higher on the main island outside Greater Noumea (13.7 per 1000; 95% CI (9.8-17.5)) and in the outlying island groups (14.6 per 1000; 95% CI (8.4-20.9)) than in Greater Noumea (5.8 per 1000; 95% CI (4.1-7.5)). RHD was more prevalent in Melanesian children (13.5 per 1000; 95% CI (10.9-16.1)) than in European (1.8 per 1000; 95% CI (0.4-3.1)).

Conclusion: This study documented a high prevalence of RHD in New Caledonia, particularly in districts located outside Noumea and in children of Melanesian heritage. These results uncover a hitherto unknown burden of disease in New Caledonia and underline the importance of delivering secondary prophylaxis to reduce the prevalence of RHD.

Barthel A, Gourinat AC, Cazorla C, Joubert C, Dupont-Rouzeyrol M, Descloux E. (2013). Breast milk as a possible route of vertical transmission of dengue virus? **Clin Infect Dis**. 57(3):415-7.

We report a case of vertical transmission of dengue infection. The virus was detected and quantified by reverse-transcription polymerase chain reaction in sequential blood samples from mother and child as well as in breast milk, but not in cord blood. This case poses questions about the risk of breastfeeding transmission of dengue virus.

Belkacem A, Caumes E, Ouanich J, Jarlier V, Dellion S, Cazenave B, Goursaud R, Lacassin F, Breuil J, Patey O; Working Group FRA-DGI. (2013). Changing patterns of disseminated gonococcal infection in France: cross-sectional data 2009-2011. **Sex Transm Infect.** 89(8):613-5.

Methods: This is a 3-year retrospective analysis of DGI cases collected through two networks of microbiologists and infectious disease specialists in France between 2009 and 2011. DGI was defined either by the isolation of *Neisseria gonorrhoeae* from blood and synovial fluid or by the existence of a clinical syndrome consistent with DGI and the isolation of *N. gonorrhoeae* from any site. We describe the epidemiological, clinical and microbiological characteristics and outcomes of DGIs.

Results: 21 patients (9 women, 12 men; 18-62 years old) were diagnosed with DGI. The number of DGI cases increased between 2009 and 2011. Two men who had sex with men were coinfecting with HIV. We found 28 extragenital locations, including arthritis (14 cases), tenosynovitis (7), skin lesions (4), endocarditis (1), prostatitis (1) and pelvic inflammatory disease (1). Genital signs were present in five patients. The diagnosis was confirmed by cultures in 20 patients-blood (4), synovial fluid (11), genital (3), throat (1), urine (1)-and by molecular biology on a pharyngeal swab in 1 patient. Seven cases were resistant to fluoroquinolones. The patients were treated with ceftriaxone, associated with corticosteroids (two cases) and surgery (six cases). Four patients had joint sequelae.

Conclusions: DGIs are increasing. Men seem to be at higher risk than women. Joint involvement was common. Microbiological diagnosis was based on culture, however molecular biology using pharyngeal swabs was helpful when cultures were negative.

Chalkiadakis E, Dufourcq R, Schmitt S, Brandily C, Kervarec N, Coatanea D, Amir H, Loubersac L, Chanteau S, Guezennec J, Dupont-Rouzeyrol M, Simon-Colin C. (2013). Partial characterization of an exopolysaccharide secreted by a marine bacterium, *Vibrio neocaledonicus* sp. nov., from New Caledonia. **J Appl Microbiol.** 114(6):1702-12.

Aims: Exopolysaccharides (EPS) are industrially valuable molecules with numerous useful properties. This study describes the techniques used for the identification of a novel *Vibrio* bacterium and preliminary characterization of its EPS.

Methods and results: Bioprospection in marine intertidal areas of New Caledonia followed by screening for EPS producing brought to selection of the isolate NC470. Phylogenetic analysis (biochemical tests, gene sequencing and DNA-DNA relatedness) permitted to identify NC470 as a new member of the *Vibrio* genus. The EPS was produced in batch fermentation, purified using the ultrafiltration process and analysed by colorimetry, Fourier Transform Infrared spectroscopy, gas chromatography, Nuclear Magnetic Resonance and HPLC-size exclusion chromatography. This EPS exhibits a high N-acetyl-hexosamines and uronic acid content with a low amount of neutral sugar. The molecular mass was $672 \times 10(3)$ Da. These data are relevant for possible technological exploitation.

Conclusions: We propose the name *Vibrio neocaledonicus* sp. nov for this isolate NC470, producing an EPS with an unusual sugar composition. Comparison with other known polymers permitted to select applications for this polymer.

Significance and impact of the study: This study contributes to evaluate the marine biodiversity of New Caledonia. It also highlights the biotechnological potential of New Caledonia marine bacteria.

Gasse B, Baroux N, Rouchon B, Meunier JM, de Frémicourt I, D'Ortenzio E. (2013). Determinants of poor adherence to secondary antibiotic prophylaxis for rheumatic fever recurrence on Lifou, New Caledonia: a retrospective cohort study. **BMC Public Health.** 13(1):131.

Background: Incidence of acute rheumatic fever (ARF) and prevalence of rheumatic heart disease (RHD) in the Pacific region, including New Caledonia, are amongst the highest in the world. The main priority of long-term management of ARF or RHD is to ensure secondary prophylaxis is adhered to. The objectives of this study were to evaluate rates of adherence in people receiving antibiotic prophylaxis by intramuscular injections of penicillin in Lifou and to determine the factors associated with a poor adherence in this population.

Methods: We conducted a retrospective cohort study and we included 70 patients receiving injections of antibiotic prophylaxis to prevent ARF recurrence on the island of Lifou. Patients were classified as "good-adherent" when the rate of adherence was $\geq 80\%$ of the expected injections and as "poor-adherent" when it was $< 80\%$. Statistical analysis to identify factors associated with adherence was performed using a multivariate logistic regression model.

Results: Our study showed that 46% of patients from Lifou receiving antibiotic prophylaxis for ARF or RHD had a rate of adherence $< 80\%$ and were therefore at high risk of recurrence of ARF. Three independent factors were

protective against poor adherence: a household with more than five people (odds ratio, 0.25; 95% confidence interval [CI], 0.08 to 0.75), a previous medical history of symptomatic ARF (odds ratio, 0.20; 95% CI, 0.04 to 0.98) and an adequate healthcare coverage (odds ratio, 0.21; 95% CI 0.06 to 0.72).

Conclusions: To improve adherence to secondary prophylaxis in Lifou, we therefore propose the following recommendations arising from the results of this study: i) identifying patients receiving antibiotic prophylaxis without medical history of ARF to strengthen their therapeutic education and ii) improving the medical coverage in patients with ARF or RHD. We also recommend that the nurse designated for the ARF prevention program in Lifou coordinate an active recall system based on an updated local register. But the key point to improve adherence among Melanesian patients is probably to give appropriate information regarding the disease and the treatment, taking into account the Melanesian perceptions of the disease.

Goarant C, Bourhy P, D'Ortenzio E, Dartevelle S, Mauron C, Soupé-Gilbert M-E, Bruyère-Ostells L, Gourinat A-C, Picardeau M, Nato F, Chanteau S. (2013). Sensitivity and specificity of a new Vertical Flow Rapid Diagnostic Test for the serodiagnosis of human leptospirosis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7:e2289.

Background: Leptospirosis is a growing public health concern in many tropical and subtropical countries. However, its diagnosis is difficult because of non-specific symptoms and concurrent other endemic febrile diseases. In many regions, the laboratory diagnosis is not available due to a lack of preparedness and simple diagnostic assay, or difficult access to reference laboratories. Yet, an early antibiotic treatment is decisive to the outcome. The need for Rapid Diagnostic Tests (RDTs) for bedside diagnosis of leptospirosis has been recognized. We developed a vertical flow immunochromatography strip RDT detecting anti-*Leptospira* human IgM and evaluated it in patients from New Caledonia, France, and French West Indies.

Methodology / Principal findings: Whole killed *Leptospira fainei* cells were used as antigen for the test line and purified human IgM as the control line. The mobile phase was made of gold particles conjugated with goat anti-human IgM. Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy criteria were used to assess the performance of this RDT. The Microscopic Agglutination Test (MAT) was used as the gold standard with a cut-off titer of ≥ 400 . The sensitivity was 89.8% and the specificity 93.7%. Positive and negative Likelihood Ratios of 14.18 and 0.108 respectively, and a Diagnostic Odds Ratio of 130.737 confirmed its usefulness. This RDT had satisfactory reproducibility, repeatability, thermal tolerance and shelf-life. The comparison with MAT evidenced the earliness of the RDT to detect seroconversion. When compared with other RDT, the Vertical Flow RDT developed displayed good diagnostic performances.

Conclusions / Significance: This RDT might be used as a point of care diagnostic tool in limited resources countries. An evaluation in field conditions and in other epidemiological contexts should be considered to assess its validity over a wider range of serogroups or when facing different endemic pathogens. It might prove useful in endemic contexts or outbreak situations.

Guerrier G, Gourinat AC, Ikowsky T, Camus E, Lehmann C, Droetto F. (2013). High syphilis but low HIV prevalence rates among pregnant women in New Caledonia. *Int J STD AIDS*. 24(12):977-979.

Sexually transmitted infections have been described as one of the major health problems in several countries of the Pacific Region. The objective of the study was to estimate the prevalence of pregnant women infected with HIV and/or syphilis in New Caledonia. HIV and syphilis test results were obtained from women attending antenatal clinics. From 2008 to 2011, 3353 pregnant women were tested with a mean prevalence of active syphilis found at 5.6/100,000. No pregnant women tested positive for HIV. Despite available resources and public health strategies similar to those existing in France, active syphilis prevalence is high in New Caledonia. Surprisingly, HIV seroprevalence remains far below the figures reported in mainland countries. However, social and economic changes as well as the looming referendum on independence scheduled in 2014 may have a potential negative impact on public health resources. The need for action to control syphilis and other curable sexually transmitted infections is pressing in order to prevent further spread of HIV in New Caledonia.

Guerrier G, D'Ortenzio E. (2013). The Jarisch-Herxheimer Reaction in Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS ONE*. 8(3): e59266.

Background: Leptospirosis is an endemo-epidemic zoonotic disease associated with potentially fatal renal, cardiovascular or pulmonary failure. Recommended treatment includes antibiotics, which may induce a Jarisch-Herxheimer reaction (JHR). Since little information on the importance of this adverse event is available, we performed this review to quantify frequency and impact of JHR in leptospirosis management.

Methodology / Principal findings: This review systematically summarizes the literature on the JHR in leptospirosis. To approach the broader aspects of the subject, articles considering the treatment of leptospirosis, national leptospirosis guidelines and textbook and technical reports of the World Health Organisation were reviewed. Publications describing JHR in leptospirosis are very limited and consist mainly of single case reports and small case series. A single randomized control trial specifically assessed the JHR occurrence, but it has never been systematically investigated in large trials. Not all guidelines and not all literature on leptospirosis mention this reaction which can be fatal.

Conclusions / Significance: Although generally assumed to be a rare event, the true prevalence of JHR in leptospirosis is unknown and the awareness of this event is insufficient. All leptospirosis guidelines and local leptospirosis protocols should stress on systematic monitoring for clinical status early after antibiotic administration. Large well designed studies are required to precise the incidence and the impact of JHR as well as the severity and rates between various antibiotics.

Guerrier G, Hie P, Gourinat A-C, Huguon E, Polfrit Y, Goarant C, D'Ortenzio E, Missotte I. (2013). Association between Age and Severity to Leptospirosis in Children. **PLoS Neglected Tropical Diseases** 7:e2436.

Background: In endemic areas, leptospirosis is more common and more severe in adults compared with children. Reasons to explain this discrepancy remain unclear and limited data focusing on adolescents are available. The objective of the study was to describe disease spectrum and outcome differences in children and adolescents admitted for leptospirosis in a large at-risk population.

Methods: Clinical and laboratory data were obtained on hospitalized cases in New Caledonia from 2006 to 2012.

Results: Data of 60 patients, 18 years of age (25 children under 14 and 35 adolescents aged 14 to 17) with confirmed leptospirosis were analyzed. Compared with children, adolescents presented more often with classic features of Weil disease ($p = 0.02$), combining hepatic and renal involvement with or without pulmonary participation. Jarisch-Herxheimer reactions were observed more often among adolescents ($p, 0.01$). The overall case fatality rate was low (1 adolescent versus 0 children).

Conclusion: Severe leptospirosis in adolescents may be more likely to show adults' characteristics compared with children. Further studies are required to explore age-dependant host factors, including puberty-related physiological changes.

Horwood P, Bande G, Dagina R, Guillaumot G, Aaskov J and Pavlin B. (2013). The threat of chikungunya in Oceania. **Western Pacific Surveillance and Response Journal**, 4(2).

The Oceania region, which includes Australia, New Zealand, Papua New Guinea and the islands of the tropical Pacific Ocean, has historically been free from chikungunya. However, the 2011 outbreak in New Caledonia and the ongoing outbreak in Papua New Guinea have highlighted the risk to other communities in Oceania where there are competent mosquito vectors and permissive social factors and environmental conditions. In this article we discuss the threat to this region that is posed by the recent evolution of the E1:A226V mutant strains of chikungunya virus (CHIKV).

Leang SK, Deng YM, Shaw R, Caldwell N, Iannello P, Komadina N, Buchy P, Chittaganpitch M, Dwyer DE, Fagan P, Gourinat AC, Hammill F, Horwood PF, Huang QS, Ip PK, Jennings L, Kesson A, Kok T, Kool JL, Levy A, Lin C, Lindsay K, Osman O, Papadakis G, Rahnamal F, Rawlinson W, Redden C, Ridgway J, Sam IC, Svobodova S, Tandoc A, Wickramasinghe G, Williamson J, Wilson N, Yusof MA, Kelso A, Barr IG, Hurt AC. (2013). Influenza antiviral resistance in the Asia-Pacific region during 2011. **Antiviral Res.** 97(2):206-10.

Despite greater than 99% of influenza A viruses circulating in the Asia-Pacific region being resistant to the adamantane antiviral drugs in 2011, the large majority of influenza A (>97%) and B strains (~99%) remained susceptible to the neuraminidase inhibitors oseltamivir and zanamivir. However, compared to the first year of the 2009 pandemic, cases of oseltamivir-resistant A(H1N1)pdm09 viruses with the H275Y neuraminidase mutation increased in 2011, primarily due to an outbreak of oseltamivir-resistant viruses that occurred in Newcastle, as reported in Hurt et al. (2011c, 2012a), where the majority of the resistant viruses were from community patients not being treated with oseltamivir. A small number of influenza B viruses with reduced oseltamivir or zanamivir susceptibility were also detected. The increased detection of neuraminidase inhibitor resistant strains circulating in

the community and the detection of novel variants with reduced susceptibility are reminders that monitoring of influenza viruses is important to ensure that antiviral treatment guidelines remain appropriate.

Theuerkauf J, Perez J, Taugamoia A, Niutoua I, Labrousse D, Gula R, Bogdanowicz W, Jourdan H, Goarant C. (2013). Leptospirosis risk increases with changes in species composition of rat populations. **Naturwissenschaften** 100:385-388.

Rats are major reservoirs of leptospirosis and considered as a main threat to biodiversity. A recent introduction of *Rattus rattus* to the island of Futuna (Western Polynesia) provided the opportunity to test if a possible change in species composition of rat populations would increase the risk of leptospirosis to humans. We trapped rodents on Wallis and Futuna and assessed *Leptospira* carriage in 357 rodents (*Rattus norvegicus*, *R. rattus*, *Rattus exulans*, and *Mus domesticus*) from 2008 to 2012. While *Leptospira* prevalence in rodents and the composition of rat populations on Futuna fluctuated with rainfall, the biomass of *Leptospira*-carrying rodents has been continuously rising from 2008 to 2012. Our results suggest that the introduction of *R. rattus* increases the risk to humans being infected with leptospirosis by rats.

Tubiana S, Mikulski M, Becam J, Lacassin F, Lefèvre P, Gourinat A-C, Goarant C, D'Ortenzio E. (2013). Risk Factors and Predictors of Severe Leptospirosis in New Caledonia. **PLoS Neglected Tropical Diseases** 7:e1991.

Background: Leptospirosis is a major public health concern in New Caledonia (NC) and in other tropical countries. Severe manifestations of the disease are estimated to occur in 5–15% of all human infections worldwide and factors associated with these forms are poorly understood. Our objectives were to identify risk factors and predictors of severe forms of leptospirosis in adults.

Methods and Findings: We conducted a retrospective case-control study of inpatients with laboratory-confirmed leptospirosis who were admitted to two public hospitals in NC in 2008–2011. Cases were patients with fatal or severe leptospirosis, as determined by clinical criteria. This approach was meant to be pragmatic and to reflect the routine medical management of patients. Controls were defined as patients hospitalized for milder leptospirosis. Risk and prognostic factors were identified by multivariate logistic regression. Among the 176 patients enrolled in the study, 71 had criteria of severity including 10 deaths (Case Fatality Rate = 14.1%). Three risk factors were independently associated with severe leptospirosis: current cigarette smoking (OR = 2.94 [CI 1.45–5.96]); delays .2 days between the onset of symptoms and the initiation of antibiotherapy (OR = 2.78 [CI 1.31–5.91]); and *Leptospira interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae as the infecting strain (OR = 2.79 [CI 1.26–6.18]). The following post-admission laboratory results correlated with poor prognoses: platelet count $\geq 50,000$ /mL (OR = 6.36 [CI 1.79–22.62]), serum creatinine >200 mM (OR = 5.86 [CI 1.61–21.27]), serum lactate >2.5 mM (OR = 5.14 [CI 1.57–16.87]), serum amylase >250 UI/L (OR = 4.66 [CI 1.39–15.69]) and leptospiremia >1000 leptospores/mL (OR = 4.31 [CI 1.17–15.92]).

Conclusions: To assess the risk of developing severe leptospirosis, our study illustrates the benefit for clinicians to have: i) the identification of the infective strain, ii) a critical threshold of qPCR-determined leptospiremia and iii) early laboratory results. In New Caledonia, preventative measures should focus on early presumptive antibacterial therapy and on rodent (reservoir of Icterohaemorrhagiae serogroup) control.

VI - Réunion du Conseil scientifique de l'IPNC : 19-20 novembre 2013, Nouméa

SCIENTIFIC COUNCIL REVIEW, 19-20 NOVEMBER, 2013.

Les membres du Conseil scientifique :

Professor John Aaskov, Queensland University of Technology, Brisbane, Australia (Chair).

Professor Ben Adler, Director, Australian Research Council Centre of Excellence in Structural and Functional Microbial Genomics, Monash University, Melbourne, Australia.

Professor Vincent Deubel, Director, Institut Pasteur, Phnom Penh, Cambodia.

Dr Flore Lacassin, Chef du Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Territorial G. Bourret, Noumea,

Associate Professor Andrew Steer, Senior Research Fellow, Royal Children's Hospital and Murdoch Children's Research Institute, Melbourne, Australia.

Le rôle du Conseil scientifique

Le Conseil Scientifique (CS) évalue les activités de Recherche, de Santé Publique de Formation et d'Enseignements des différentes Unités de recherche et d'expertise (URE), et des laboratoires de l'Institut concernés, sur la base des documents, rapports, publications qui lui sont présentés en séance par les responsables de ces URE et laboratoires.

Le CS conseille le directeur général de l'Institut sur les orientations stratégiques qui seraient à développer, sur les partenariats scientifiques et techniques nécessaires à la mise en œuvre de ces stratégies.

Il est consulté sur les créations, suppressions et regroupements de services de recherche et d'enseignement, et sur les nouveaux développements des outils et laboratoires.

Il présente un rapport d'évaluation, incluant des recommandations.

Le CS, sur proposition du Pr Baudon, a validé la création d'une fonction de coordinateur scientifique de l'IPNC et la désignation du Dr Cyrille Goarant pour occuper cette fonction.

Annexe 1

Financement des activités de recherche à l'IPNC en 2013

Budget de l'IPNC pour 2013 : 9,5 millions € 1,13 Milliards XFP

Budget « Recherche » de l'IPNC en 2013
876 500 € (104,6 millions XFP), soit près de 9,2 % du budget de l'IPNC

I - Financement par l'Institut Pasteur (Paris) : 574 558 € (68,5 millions XFP), soit 65,5 %

- Subvention du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR)

561 150 € (67 millions XFP) versée par l'Institut Pasteur (Paris)

- Actions de recherche concertées inter pasteurienne (ACIP) : 13 408 € (1,6 millions XFP)

°A noter que l'IPP finance aussi le poste de responsable de l'Unité de recherche et d'expertise en épidémiologie. Cet apport n'est pas valorisé dans les comptes de l'IPNC.

II - Financement par le Gouvernement de NC : 147 583 € (17,6 millions XFP), soit 16,8 %

Subvention 5 millions de XFP (41 900 €) pour la recherche portant sur la dengue, la leptospirose et le Rhumatisme Articulaires Aigus : réf. L. N° 3450 – 239/2012– IPNC/DG du 17/12/2012 et L. CS-13-7120-000014 du 4 mars 2013)

Subventions (44 709 €), au titre du comité directeur du Fonds Pacifique, avec :

3,579 millions XFP dans le cadre du contrôle renforcé des épidémies de Dengue et de Chikungunya.

1,76 millions XFP, pour la poursuite d'une étude sur la leptospirose.

Subvention de 6,5 millions XFP (54 471 €) pour le salaire d'un poste d'ingénieur recherche à l'IPNC.

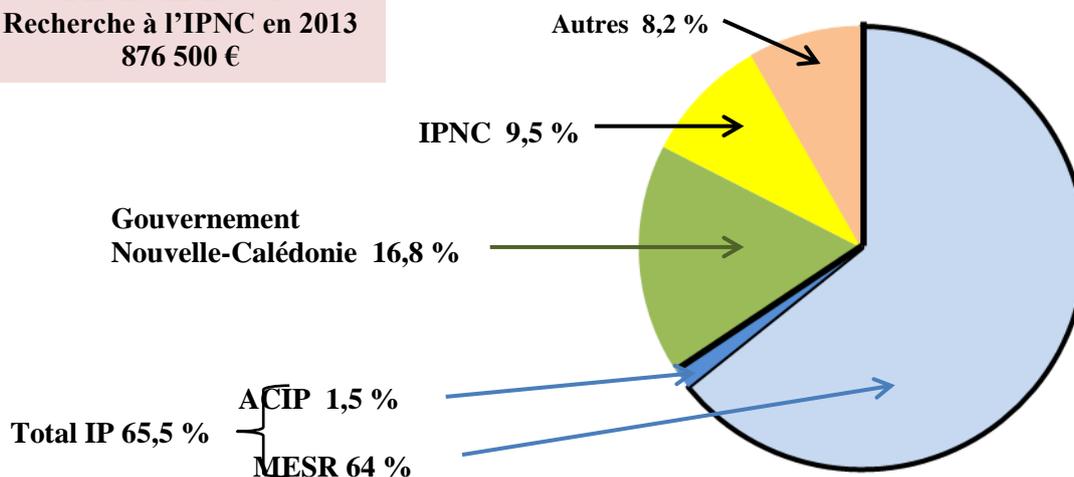
Subvention pour le financement de la 1^{ère} journée scientifique de l'IPNC : 776 000 XFP (6503 €)

°A noter que l'IPNC utilise des locaux pour lesquels aucun loyer n'est payé au Gouvernement ; cet apport n'est pas valorisé dans les comptes de l'IPNC.

III – Ressources propres de l'IPNC : 81 960 € (9,8 millions XFP), soit 9,5 %

IV - Autres financements. (cf. annexe 2) 72 399 € (8,6 millions XFP), soit 8,2 %

**Financement de la
Recherche à l'IPNC en 2013**
876 500 €



Annexe 2

Recherche : les bailleurs de fonds - Les partenaires impliqués dans les 21 projets de recherche

I - Bailleurs de fond pour la recherche en 2013.

- MESR devenu MENSER en mai 2014 : Ministère de l'éducation national, de l'enseignement supérieur et de la recherche.
- Institut Pasteur (Paris)
- Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie
- Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, sur ses fonds propres
- Ministère de l'Outre-Mer
- Fonds Pacifique, à travers l'AFD,
- Agence Nationale pour la Recherche
- CPS – Secrétariat général de la Communauté du Pacifique
- University of Oxford Roosevelt, Drive, Oxford, OX3 7BN, UK

II - Partenaires impliqués dans les 21 projets de recherche en 2013.

Réseau International des Instituts Pasteur

- Instituts Pasteur : Paris, Guyane, Montevideo, Madagascar, Bangui

Nouvelle-Calédonie

- UNC - Université de Nouvelle-Calédonie
- CHT - Centre Hospitalier Territorial Gaston Bourret // CHN – Centre Hospitalier du Nord
- DASS-NC - Direction des affaires sanitaires et sociales
- IAC - Institut Agronomique Néo-Calédonien
- IFREMER - Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer
- DAVAR - Direction des affaires vétérinaire, alimentaires et Rurales
- LNC - Service des Laboratoires officiels vétérinaires, agroalimentaires et phytosanitaires de la NC
- Centre PMI, Nouméa
- CREGG - Centre de Régulation des Gros Gibiers en Nouvelle - Calédonie

National

- IRD Montpellier -(Maladies infectieuses et vecteurs : écologie, génétique, évolution et contrôle - MIVEGEC)
- SSA - Service de santé des armées, CNR Arboviroses Marseille, Centre d'épidémiologie et de santé publique des armées Marseille
- DSDS Guadeloupe
- Agence de Santé des îles Wallis & Futuna
- Institut Louis Malardé (ILM- Polynésie française)

Collaborations internationales et région Pacifique :

- Secrétariat général de la Communauté du Pacifique- CPS
- Ministères de la Santé du Vanuatu, de Fiji, de Tonga
- College of Medicine, Nursing and Health Sciences, Fiji National University, Fiji
- WHO Centre for Arbovirus Reference and Research Australia.
- Université d'Otago (Nouvelle-Zélande)
- Murdoch Children's Research Institute, The Royal Children's Hospital, Melbourne,
- Université de Melbourne (Australia)
- Queensland Institute of Medical Research (Australia)
- University of Oxford Roosevelt, Drive, Oxford, UK
- Liverpool School of Tropical Medecine (UK)

Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie - Membre du Réseau International des Instituts Pasteur
9-11 av. Paul Doumer - BP 61 98 845 Nouméa Cedex – Nouvelle-Calédonie - Internet : www.institutpasteur.nc
Tel : (687) 27 02 80 - Télécopie : 27 33 90 – diripnc@pasteur.nc

78 personnels

dont 14 scientifiques (7 chercheurs, 2 ingénieurs, 5 biologistes) – 33 techniciens de laboratoire - 6 cadres administratifs
Locaux de 1500 m2 dont 700 m2 de laboratoire - Un laboratoire de Haute sécurité biologique de niveau 2+ (P2 +)

L'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (IPNC) est un établissement secondaire de l'Institut Pasteur (Paris) (IP), fondation privée reconnue d'utilité publique. En 1955, l'Institut de microbiologie de NC créé en 1913, devient l'Institut Pasteur de Nouméa, puis prend en 1989 son appellation actuelle d'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie.

L'IPNC est membre du Réseau international des Instituts Pasteur (RIIP) dont il partage la mission principale, **la lutte contre les maladies infectieuses**. Il assure dans ce but quatre missions : **Recherche, Santé Publique, Service, Enseignement**. Ce réseau regroupe 32 Instituts répartis sur les cinq continents, avec près de 10 000 collaborateurs.

Les laboratoires de service

Laboratoire de Biologie Médicale, laboratoire Hygiène et Environnement

L'IPNC réalise les examens de microbiologie et d'hématologie du Centre Hospitalier Territorial Gaston Bourret (CHT) dont il partage les locaux. Il est aussi un laboratoire de biologie médicale pour la population de NC et assure des examens spécialisés.

Les examens de biologie médicale sont réalisés dans les laboratoires de Bactériologie/Parasitologie/Mycologie, d'Immuno-sérologie/biologie moléculaire, et d'Hématologie. *196 343 analyses réalisées en 2013*

Le Laboratoire Hygiène et Environnement réalise des analyses microbiologiques des eaux et des aliments. Il a un rôle d'expertise auprès de la Nouvelle-Calédonie (eaux de baignade, produits export comme les crevettes, le thon.) **Il participe aussi à la surveillance de l'hygiène hospitalière.** *Près de 9000 échantillons analysés/en 2013*

L'IPNC : un Centre de Recherche

3 grandes thématiques : les Arboviroses, la Leptospirose, le Rhumatisme Articulaires Aigu

5 Unités de recherche et d'expertise- URE

URE-Leptospirose/URE-Dengue et Arboviroses/URE-RAA

URE Epidémiologie des maladies infectieuses/

URE Entomologie médicale

Les différents thèmes de recherche s'appuient sur les priorités de santé publique de la Nouvelle-Calédonie et de la Région Pacifique. 21 programmes de recherche étaient en cours en 2013, sur les thèmes suivants : Leptospirose (10), Arboviroses et vecteurs (7), Rhumatisme articulaire aigu (3) – Autres (1)

Ces 21 programmes se font en collaboration avec des structures et organisations nationales et internationales : Réseau International des Instituts Pasteur et IP Paris, IRD, IFREMER, Université de la Nouvelle-Calédonie, le Centre Hospitalier Territorial de Nouméa et le Centre Hospitalier Nord, l'Institut Agronomique Néo-Calédonien, la Direction des Affaires vétérinaires, alimentaires et rurales de NC, la Direction des Affaires sanitaires et sociales de NC, le CNR Arbovirose (Service de santé des armées – Marseille), l'Agence de santé des îles Wallis et Futuna, l'Institut Louis Malardé (Polynésie Fr), les Ministères de la santé du Vanuatu, de Fiji et de Tonga, Collaborating WHO Centre for Arbovirus Reference and Research Australia, Universités d'Otago en NZ et de Melbourne en Australie, University of Oxford Roosevelt (UK), Murdoch Research Children Institute of Melbourne (Melbourne University), College of Medicine, Nursing and Health Sciences, Fiji National University, Liverpool School of Tropical Medicine (UK).

Ils bénéficient de **financements de plusieurs bailleurs de fonds** : IP, Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche, Ministère de l'Outre-Mer, Gouvernement de Nouvelle-Calédonie, Fonds Pacifique à travers l'AFD, Agence Nationale pour la Recherche, University of Oxford Roosevelt (UK)

Par ses capacités techniques et scientifiques, l'IPNC est partie prenante de la « Plate-forme de recherche pour les sciences du vivant de la Nouvelle-Calédonie », qui mutualise des moyens technologiques de 6 organismes de recherche présents localement avec le soutien de l'Etat français.

L'IPNC sera membre du futur Consortium de coopération stratégique pour la Recherche l'Enseignement Supérieur et l'Innovation en Nouvelle-Calédonie, CRESICA.

Santé Publique

Surveillance biologique des maladies - Surveillance entomologique

A la demande des autorités sanitaires locales, la Direction des Actions Sanitaires et Sociales (DASS), l'Agence Sanitaire et Sociale (ASS), et en collaboration étroite avec elles, l'IPNC participe à la veille sanitaire et à la surveillance épidémiologique des maladies. Il réalise en particulier la surveillance biologique des maladies infectieuses endémiques (leptospirose, tuberculose, infections sexuellement transmissibles, infections à pneumocoques, etc.), et celles à risque épidémique comme la dengue, le chikungunya, le ZikaV et la grippe.

L'IPNC participe au suivi de la résistance aux antibiotiques des bactéries d'intérêt médical, **en collaboration étroite** avec les cliniciens du CHT G. Bourret et des autres Hôpitaux de NC ; il est membre du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales du CHT.

Cette surveillance biologique se fait **en collaboration étroite** avec nos laboratoires, permettant ainsi l'isolement et/ou l'identification moléculaire de virus comme ceux de la dengue, du chikungunya, de la grippe humaine (dont celui de la Grippe pandémique A/H1N1), de la grippe aviaire, du VIH, et de bactéries comme les leptospires, le pneumocoque, le bacille de la tuberculose.

Financement des activités de santé publique en 2013 (surveillance biologique des maladies infectieuses et surveillance entomologique) : 70 % par le Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie, 30 % par l'IPNC sur ses fonds propres.

Références et expertises

- L'IPNC est Centre National de Référence OMS pour la Grippe humaine et la Grippe aviaire.
- Il tient lieu de Laboratoire de référence pour la surveillance biologique de la dengue et autres arboviroses pour la Nouvelle-Calédonie (NC), de la leptospirose pour la NC et Wallis & Futuna.
- Il est laboratoire de niveau 2 dans le Réseau Océanien de Surveillance de la Santé Publique.
- Il est l'Observatoire Régional du Pneumocoque permettant le suivi des sérotypes circulants.
- Le laboratoire d'entomologie médicale de l'IPNC, en partenariat étroit avec la DASS et les communes du « Grand Nouméa », est responsable du suivi spatio-temporel de la densité, ainsi que de la vérification de la sensibilité aux insecticides des moustiques vecteurs de maladies. Il a également à charge la surveillance autour des zones portuaires et aéroportuaires dans le cadre du Règlement Sanitaire International.

Les principaux résultats en 2013

***Près de 25 000 prélèvements sanguins analysés dans le cadre de la surveillance biologique.**

Arboviroses : 9934 cas de dengue 1 - 30 cas de chikungunya - 19 cas de Zika virus // Grippe : 73 cas

Leptospirose : 68 nouveaux cas (27,7 p 100 000/an) – Tuberculose : 32 nouveaux cas (12,4 p 100 000/an)

Résistance aux antibiotiques : 1^{re} souche d'entérobactérie productrice de carbapénémase identifiée en NC

***Surveillance entomologique :**

- *Aedes aegypti*, seul vecteur d'importance pour la Santé Publique présent en Nouvelle-Calédonie.
- Aucune mise en évidence d'introduction d'espèce de moustique exogène aux points d'entrée internationaux (ports et aéroport).
- Absence d'Anophèle en Nouvelle-Calédonie.

Enseignement/ Formation

- Les laboratoires de l'IPNC peuvent accueillir des stagiaires (Licence, Master, Thèse de doctorat, stage post-doctoral, internat de biologie, Thèse de médecine et de pharmacie), ainsi que des techniciens de laboratoire dans le cadre de la formation initiale ou continue. Au total, 8 stagiaires ont été accueillis en 2013.

- L'IPNC organise ou participe à des cours et ateliers pour la formation locale et régionale de techniciens de laboratoire.

- Les scientifiques participent à des enseignements dispensés à l'Université de la Nouvelle-Calédonie.

L'avenir

La construction du nouvel IPNC au sein du futur Médipôle situé à KOUTIO a débuté en 2013. L'installation dans les nouveaux locaux est prévue fin 2016. Cela va permettre un agrandissement des surfaces des laboratoires pour fournir des prestations et une expertise de haut niveau, dans le respect des normes internationales d'hygiène et de biosécurité. L'objectif sera d'obtenir dans les deux ans suivant l'installation, les accréditations COFRAC pour les laboratoires de biologie médicale et pour le laboratoire Hygiène et environnement.

Cette nouvelle implantation permettra un renforcement des missions de laboratoire de référence et le développement de la recherche, avec la participation plus importante de chercheurs calédoniens et de la Région Pacifique.

Le Campus du Médipôle à Koutio, périphérie Nord de Nouméa – prévision 2016 (Plan général II.A.Zuga SARL – Agence Beauvais et associés)

Centre Hospitalier Territorial Gaston Bourret



Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie



L'IPNC : avancement des travaux de construction : avril 2014

Dans le cadre de la lutte contre les maladies infectieuses, l'IPNC se veut être un observatoire microbiologique pour la santé humaine, au bénéfice des populations de Nouvelle-Calédonie et de la Région Pacifique. Les quatre missions - *Service, Santé publique, Recherche, Formation* - sont étroitement intriquées et se potentialisent mutuellement. C'est ce qui fait la force et la qualité de l'IPNC, et qui explique la reconnaissance scientifique qu'il a au niveau local, régional et international.

Louis Pasteur : des mots sur la Recherche

« Il y a la science et les applications de la science, liées entre elles comme le fruit à l'arbre qui l'a porté »

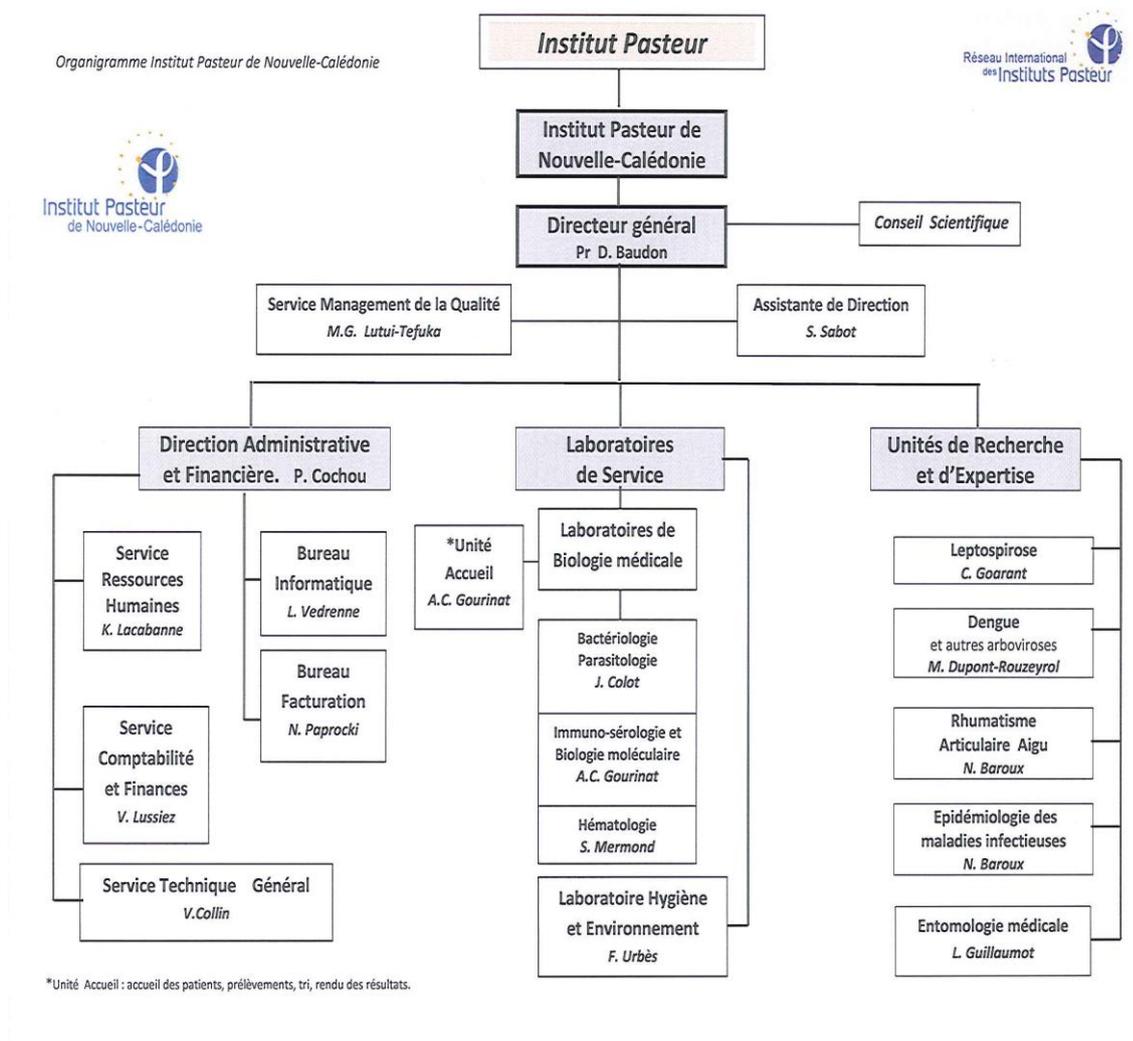
« Il n'y a pas de recherche fondamentale et de recherche appliquée, il y a la recherche avec ses applications. »

« Prenez intérêt à ces demeures sacrées que l'on désigne sous le nom expressif de laboratoires. Demandez qu'on les multiplie et qu'on les orne, ce sont les temples de l'avenir »

« Les laboratoires sont les temples de l'avenir, de la richesse, du bien-être. C'est là que l'humanité grandit, se fortifie et devient meilleure »

Annexe 4

Organigramme de l'IPNC - décembre 2013



Le Dr Eric d'Ortenzio, Responsable des Unités de Recherche et d'Expertises (URE) Epidémiologie des maladies infectieuses et RAA a quitté l'IPNC en avril 2013 ; en 2013, depuis son départ, l'intérim de la responsabilité des deux URE a été assuré par Noémie Baroux, Epidémiologiste et biostatisticienne.

Pour 2014, deux nouveaux pharmaciens biologistes ont été recrutés :

Le Docteur Antoine Biron, comme biologiste polyvalent (arrivée en avril 2014)

Le Docteur Marie-Amélie Goujart, comme responsable du Laboratoire d'Hématologie (arrivée en juin 2014), en remplacement du Docteur Sylvain Mermond qui a quitté l'IPNC en mars 2014.

Annexe 5

Courriels pour plus d'informations

Si vous souhaitez avoir des informations plus complètes sur les activités de l'IPNC, vous pouvez vous adresser aux responsables des Unités de Recherche et d'Expertise (URE) et des différents laboratoires et services dont les mails sont donnés ci-dessous.

Responsable	URE, Laboratoire, Service	Courriel
Pr Dominique BAUDON	Direction générale	dbaudon@pasteur.nc
Pierre COCHOU	Direction administrative & financière	pcochou@pasteur.nc
Marie-Gloria LUTUI-TEFUKA	Management de la qualité	mlutui@pasteur.nc
Julien COLOT	Laboratoire de bactériologie, parasitologie & mycologie	jcolot@pasteur.nc
Ann-Claire GOURINAT	Laboratoire d'immunologie-sérologie & biologie moléculaire	agourinat@pasteur.nc
Marie-Amélie GOUJART*	Laboratoire d'hématologie	mgoujart@pasteur.nc
Antoine BIRON*	Biologiste polyvalent	abiron@pasteur.nc
Florence URBES	Laboratoire hygiène & environnement	furbes@pasteur.nc
Cyrille GOARANT Coordinateur scientifique IPNC	Unité de recherche & d'expertise Leptospirose- URE-L	cgoarant@pasteur.nc
Myrielle DUPONT-ROUZEYROL	Unité de recherche & d'expertise Dengue et autres Arboviroses- URE-DA	mdupont@pasteur.nc
Laurent GUILLAUMOT	Unité de recherche & d'expertise Entomologie médicale URE-Emi	lguillaumot@pasteur.nc

URE Epidémiologie des maladies infectieuses et URE Rhumatisme articulaire aigu.

Le Dr Eric D'ORTENZIO, responsable des URE-Emi et URE-Raa a quitté l'IPNC en avril 2013.

L'intérim pour les URE Emi et RAA a été assuré en 2013 par Noémie Baroux. Le recrutement d'un chercheur épidémiologiste est en cours.

Pour toute information concernant l'URE Emi et l'URE RAA, veuillez utiliser l'adresse mail : diripnc@pasteur.nc (Secrétariat direction/administration).

*Le Docteur Sylvain Mermond, responsable du Laboratoire d'Hématologie a quitté l'IPNC en mars 2014 ; Marie-Amélie Goujart a pris ses fonctions de responsable du laboratoire d'Hématologie en juin 2014.

Le Docteur Antoine Biron a pris ses fonctions de biologiste polyvalent en avril 2014 (en remplacement du Docteur Nathalie AMEDEO)

Annexe 6

Annuaire de l'IPNC 2014 - Indicatif NC : 687

Standard Institut/Accueil	27.26.66
Fax accueil	27.02.86
Fax Comptabilité (accès à international)	27 75 34
Fax Direction (accès à international).....	27.33.90
Fax Epidémiologie Statistique.....	27.97.49
Fax Facturation (accès à international).....	27.02.84
Fax Immuno/Virologie (accès à international).....	27.97.48
Fax STG (accès à l'international).....	27.02.91

DIRECTION

Directeur général – Pr Dominique BAUDON	27 02 80
Responsable Management de la Qualité : Marie-Gloria LUTUI	27 00 47
Secrétariat Direction/Administration : Sidavy SABOT	27 02 80

DIRECTION ADMINISTRATIVE ET FINANCIERE

Directeur Administratif et Financier : Pierre COCHOU	27 02 82
Chef-comptable : Véronique LUSSIEZ	27 75 33
RH, Chargée de la gestion administrative : Karen LACABANNE	27 00 45

SERVICE TECHNIQUE GENERAL

Responsable : Viviane COLLIN	27 26 61
Collaborateur : Philippe BARAQUET	27 02 83

COORDINATEUR INFORMATIQUE : Lilian VEDRENNE	27 02 92
---	----------

UNITES DE RECHERCHE & D'EXPERTISE

- Epidémiologie des maladies inf. : Responsable en recrutement.....	27 36 34
- Dengue & autres arboviroses : Responsable, Myrielle DUPONT-ROUZEYROL	27 75 30
- Leptospirose : Responsable, Cyrille GOARANT	27 75 31
Chercheur, Mariko MATSUI	27 97 46
- Entomologie médicale : Responsable, Laurent GUILLAUMOT	27 97 47

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE/PARASITOLOGIE

Responsable : Dr Julien COLOT	27 02 93
-------------------------------------	----------

LABORATOIRE D'IMMUNOSEROLOGIE /BIOLOGIE MOLECULAIRE

Responsable : Dr Ann-Claire Gourinat	27 02 85
--	----------

LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE

Responsable : Dr Marie-Amélie GOUJART	27 75 32
---	----------

Biologiste polyvalent

Dr Antoine BIRON :	27 26 66
--------------------------	----------

LABORATOIRE HYGIENE ET ENVIRONNEMENT

Responsable : Florence URBES.....	27 02 89
-----------------------------------	----------