

**Centre National de Référence
des HANTAVIRUS**

Laboratoire Coordonnateur

**Institut Pasteur
Unité de Biologie des Infections
Virales Emergentes
21 avenue Tony Garnier
69 365 LYON Cedex 7**

**Responsable :
Jean-Marc REYNES**

**Laboratoire Associé
Région Antilles-Guyane**

**Institut Pasteur de la Guyane
Laboratoire de virologie
23 avenue Pasteur
BP 6010
97306 Cayenne**

**Responsable :
Séverine MATHEUS**

**Année d'exercice
2012**

Résumé analytique

Le CNR des Hantavirus, nouvelle entité, a été attribué pour la période allant du 1^{er} janvier 2012 au 31 décembre 2016 à l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes (UBIVE) de l'Institut Pasteur à Lyon (coordonnateur) et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé). Le quart Nord-Est du territoire métropolitain est zone d'endémie de l'hantavirus Puumala responsable d'une fièvre hémorragique à syndrome rénal tandis que l'hantavirus Maripa nouvellement décrit en Guyane, est responsable d'un syndrome cardio-pulmonaire. Le CNR a pour missions de développer une expertise sur les Hantavirus du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde, de contribuer à la surveillance des maladies provoquées par ces virus et d'émettre en cas de phénomènes anormaux des alertes.

Les résultats marquants de l'année sont les suivants :

- dans la zone d'endémie de l'hantavirus Puumala, une circulation élevée du virus a été observée puisque 169 cas d'infection récente ont été détectés par le laboratoire coordonnateur (la moyenne annuelle de cas sur 10 ans est de 115 cas). Elle a débuté au cours de l'hiver pour se terminer au cours de l'automne suivant. Les dernières périodes de forte activité remontaient à 2005, 2007 et 2010.
- un cas humain d'infection aiguë par l'hantavirus Seoul a été détecté par le laboratoire coordonnateur dans l'Ain. Le virus Seoul était connu pour être présent en France chez les rongeurs et suspect d'être présent chez l'homme. Il s'agit donc du premier cas humain confirmé virologiquement en France (et même en Europe). La maladie provoquée par ce virus est en général peu sévère et la létalité est faible mais supérieure à celle provoquée par le virus Puumala (<1%).
- depuis l'identification d'un troisième cas humain d'infection récente par un hantavirus du Nouveau Monde en 2010 en Guyane, aucun nouveau cas n'a été rapporté par le laboratoire associé.
- le CNR des Hantavirus a été sollicité dans le cadre de l'alerte internationale lancée par les autorités sanitaires américaines fin août 2012, suite à l'infection par l'hantavirus Sin Nombre de touristes visitant le parc National de Yosemite (Californie, USA). Aucun cas d'infection récente par ce virus n'a été détecté chez les 68 patients prélevés suspects d'infection.
- le laboratoire associé a effectué en collaboration avec le laboratoire des Interactions Virus-Hôtes de l'Institut Pasteur de Guyane, la caractérisation moléculaire complète de l'hantavirus identifié en Guyane et baptisé virus Maripa. Ce virus est phylogénétiquement proche du virus Rio Mamore isolé antérieurement en Bolivie.
- le laboratoire coordonnateur a décrit dans le cadre d'une collaboration avec des Instituts Pasteur du Réseau International un nouvel hantavirus associé à deux espèces de rongeurs de Madagascar : ce virus, baptisé virus Anjzorobe, appartient au groupe phylogénétique du virus Thailand (THAIV), comprenant des hantavirus décrits en Asie du Sud-Est. THAIV est suspect d'être la cause de fièvre hémorragique avec syndrome rénal chez l'homme en Asie du Sud-Est.

SOMMAIRE

1	Mission du CNR	4
2	Activités de surveillance	4
2.1	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	4
2.2	Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux.....	13
2.3	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	13
3	Alertes	13
3.1	Détection anormalement élevée de cas d'infection récente par le virus Puumala.....	13
3.2	Premier cas humain d'infection par le virus Seoul, confirmé virologiquement	14
3.3	Alerte au virus Sin Nombre dans le parc naturel de Yosemite aux USA	14
4	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....	15
4.1	Caractérisation moléculaire du virus Maripa.....	15
4.2	Description d'un nouvel hantavirus associé aux rongeurs de Madagascar	15
4.3	Recherche d'hantavirus en France métropolitaine chez le hérisson commun (<i>Erinaceus europaeus</i>)	16
4.4	Publications et communications	16

1 Mission du CNR

Par arrêté du 26 novembre 2011, le CNR des Hantavirus a été attribué pour la période allant du 1^{er} janvier 2012 au 31 décembre 2016 à l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes (UBIVE) de l'Institut Pasteur à Lyon (laboratoire coordonnateur) et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé). Les missions du CNR telles que définies dans l'appel à candidature de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) en janvier 2011 sont :

a). Apporter une expertise :

- participer au développement et à l'évaluation des techniques diagnostiques sérologiques et moléculaires des hantavirus, incluant les virus du Nouveau Monde en liaison avec les laboratoires des départements français d'outre-mer (DFA),
- apporter son expertise aux laboratoires de biologie de ville et hospitaliers pour le diagnostic des infections par les hantavirus (confirmation de diagnostic, identification de virus, séquençage),
- développer des collaborations avec des laboratoires étrangers, notamment au niveau européen.

b). Contribuer en lien avec l'Institut de veille sanitaire, à la surveillance épidémiologique :

- en s'appuyant sur un réseau de laboratoires,
- en participant à l'investigation de cas groupés,
- en collaborant avec les structures en charge de la surveillance chez l'animal.

c) Contribuer à l'alerte en signalant à l'Institut de veille sanitaire tout évènement inhabituel : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés, modification des formes cliniques (répartition, modification de l'expression clinique, formes inhabituelles), introduction d'un nouveau sérotype sur le territoire, etc.

Suite à l'émergence de l'hantavirus Maripa en Guyane, les missions du laboratoire associé sont en particulier de contribuer à la surveillance épidémiologique pour la région Antilles-Guyane, de développer et d'apporter une expertise microbiologique et de contribuer à l'alerte sanitaire en signalant à l'InVS, à la Cellule de l'InVS en région Antilles-Guyane (Cire) et aux Agences Régionales de Santé (ARS) concernées, l'identification de tout nouveau cas humain ou phénomène anormal.

2 Activités de surveillance

2.1 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

France Métropolitaine (laboratoire coordonnateur)

- Réseau de partenaires :

Le laboratoire coordonnateur reçoit des prélèvements pour un diagnostic de première intention et également pour un diagnostic de deuxième intention. Ces derniers sont expédiés par les laboratoires partenaires effectuant un diagnostic de première intention (*Tableau 1*).

- Prélèvements réceptionnés

Le laboratoire coordonnateur a reçu en 2012, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 550 prélèvements (526 sérums, 17 plasmas, 5 sangs totaux, et 2 LCR) provenant de 430 patients (une centaine de patients ayant eu au moins un 2^{ème} prélèvement). 40% de ces prélèvements ont été adressés par des laboratoires pour un diagnostic de 1^{ère} intention. Ce pourcentage, plus élevé que les années précédentes,

s'explique par des demandes exceptionnelles de diagnostic dans le cadre de l'alerte au virus Sin Nombre dans le parc national de Yosemite aux USA (cf. 3.). Ce pourcentage tombe à 25%, une fois exclus les 108 prélèvements concernés par l'alerte et est inférieur à celui observé en 2011 (32%).

Tableau 1 : Laboratoires effectuant en première intention un diagnostic sérologique des hantavirus en France métropolitaine et participant à la surveillance

Laboratoires	Trousses de diagnostic sérologique Hantavirus
Amiens CHU (80)	Reagentia POC Puumala IgM
Besançon CHRU (25)	Reagentia POC Puumala IgM
Biomnis (69)	Focus Hantavirus IgG et IgM
Cerba (95)	Focus Hantavirus IgG et IgM Puis (01/10/12) Euroimmun Pool 1 Eurasia IgG et IgM
Charleville-Mézières CH (08)	Reagentia POC Puumala IgM et Focus Hantavirus IgG et IgM
Laon LABM Coquelet et coll. (02)	Reagentia POC Puumala IgM
Laon CH (02)	Reagentia POC Puumala IgM
Lille CHRU (59)	Euroimmun Pool 1 Eurasia IgG et IgM
Nancy CHRU (54)	Reagentia POC Puumala IgM
Reims CHU (51)	Reagentia POC Puumala IgM
Saint-Quentin CH (02)	Reagentia POC Puumala IgM
Strasbourg CHRU (67)	Reagentia POC Puumala IgM

La plupart (93%) des prélèvements reçus pour un diagnostic de 1^{ère} intention ont une origine hospitalière (*Tableau 5*). Il en est de même pour ceux reçus pour un diagnostic de 2^{ème} intention (81%, 270/333 ; données non présentées). Le non remboursement des frais de diagnostic sérologique explique le faible niveau de demande de cet examen auprès des médecins libéraux.

La grande dispersion des origines pour les prélèvements de diagnostic de première intention s'explique également par l'alerte Hantavirus aux USA (*Tableau 2*). Habituellement, les demandes émanent essentiellement de la zone d'endémie des cas humains d'infection par le virus Puumala.

Une fiche de renseignements (pas toujours parfaitement remplie) a été reçue pour 97% des prélèvements (416/430). Ce pourcentage était largement supérieur à celui des trois années précédentes (de l'ordre de 60%). Il a été obtenu grâce à de nombreuses relances auprès des prescripteurs

Les prélèvements provenaient de patients résidant en France sauf 11 sérums prélevés sur 10 patients résidant en Suisse (n=1), au Luxembourg (n=7), en Allemagne (n=1) ou Côte d'Ivoire (n=1) (reçus des laboratoires de biologie médicale spécialisée pour un diagnostic de 2^{ème} intention).

Tableau 2 : Origine des prélèvements reçus par le laboratoire coordonnateur

Diagnostic (n = 550)	Origine		Effectif
	Région	Département	
	Alsace	CH Saverne (67)	2

Diagnostic (n = 550)	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 1 ^{ère} intention (n = 217)		CHU Strasbourg (67)	2
		CH Mulhouse (68)	4
		CHU de Bordeaux (33)	5
	Aquitaine	CH Dax (40)	1
		CH Bayonne (64)	4
	Auvergne	CHU Clermont-Ferrand (63)	8
	Basse Normandie	CH Lisieux (14)	2
	Bourgogne	CHU Dijon (21)	3
	Bretagne	CH Saint-Brieuc (22)	6
		CH Quimper (29)	1
		CHU Brest (29)	2
		CHU Rennes (35)	5
	Centre	CH Blois (41)	1
		CHR Orléans (45)	3
	Franche Comté	CH Saint-Claude (39)	1
		Praticien (39)	1
		CH Belfort-Montbéliard (90)	1
	Ile de France	Hôpital Bichat (75)	10
		Hôpital Cochin (75)	2
		Hôp. Européen G. Pompidou (75)	1
		Hôpital Necker-Enf. Mal. (75)	4
		Hôpital Pitié Salpêtrière (75)	4
		Hôpital R. Debré (75)	1
		Hôpital Saint-Antoine (75)	7
		Hôpital Saint-Louis (75)	4
		Hôpital Tenon (75)	4
		Institut Pasteur – Centre Méd. (75)	4
		Praticien (75)	6
		CH de Versailles (78)	4
		CH Orsay (91)	1
		CH Suresnes (92)	2
		HIA Clamart (92)	2
		IH Franco-Britannique (92)	1
Hôpital de Garches (92)		5	
CHIC Créteil (94)	1		
CH Gonesse (95)	4		
Languedoc Roussillon	CHU de Nîmes (30)	1	
	CHRU Montpellier (34)	2	
Limousin	CHU de Limoges (87)	2	
Lorraine	CHU de Nancy (54)	40	
	Clin. L. Pasteur Nancy (54)	1	
	HIA Metz (57)	3	
	CH d'Epinal (88)	3	
Midi Pyrénées	Praticien (31)	2	
Nord Pas de Calais	CHRU Lille (59)	2	
	Praticien (59)	1	
	CH Béthune (62)	1	
	CH Lens (62)	1	
Pays de la Loire	CHU de Nantes (44)	2	
Poitou Charentes	CH Niort (79)	1	
	CHU Poitiers (86)	2	
Provence Alpes Côte d'Azur	CH Antibes (06)	4	
	CHU de Marseille (13)	15	

Diagnostic (n = 550)	Origine		Effectif	
	Région	Département		
		Hôpital Conception Marseille (13)	1	
		Praticien (83)	1	
	Rhône Alpes	CH Montélimar (26)	2	
		Praticien (26)	2	
		CHU Lyon (69)	5	
		Praticien (69)	1	
		CH Chambéry (73)	1	
		Praticien (73)	1	
		CH Thonon-Les-Bains (74)	1	
	de confirmation (n = 333)	Alsace	CHRU Strasbourg (67)	0
		Champagne-Ardenne	CHU de Reims (51)	15
			CH de Charleville-Mézières (08)	26
		Franche	CHRU de Besançon (25)	16
Ile de France		Laboratoire Cerba (75)	119	
Lorraine		CHRU Nancy (54)	2	
		HIA Metz (57)	2	
Nord Pas de Calais		CHRU de Lille (59)	32	
Picardie		CH de Laon (02)	9	
		LABM Coquelet et coll. Laon (02)	10	
		CH de Saint Quentin (02)	2	
		CHU Amiens (80)	95	
Rhône-Alpes		Laboratoire Biomnis (69)	5	

- Résultats

Le laboratoire coordonnateur a effectué sur tous ces prélèvements, dans le cadre du diagnostic, une recherche d'IgM et d'IgG anti-hantavirus [ELISA IgM anti-virus Hantaan (HTNV) et anti-virus Sin Nombre (SNV) et IgG anti-HTNV, anti-SNV et anti-virus Puumala (PUUV) + IF Ig anti HTNV et PUUV], le choix des antigènes testés dépendant du lieu d'exposition des patients. Le laboratoire coordonnateur a également recherché l'ARN de PUUV ou d'hantavirus en cas de demande expresse ou sur certains prélèvements ciblés dans le cadre de la surveillance. Au total, 3657 examens ont été effectués sur les 550 prélèvements reçus (*Tableau 3*).

Tableau 3 : Examens effectués par le laboratoire coordonnateur dans le cadre de la surveillance

Examens		Effectifs ¹
IF Ig	PUUV	527
	HTNV	527
ELISA IgM	PUUV	0 ²
	HTNV	528
	SNV	92
ELISA IgG	PUUV	528
	HTNV	528
	SNV	92
RT-PCR temps réel	PUUV	246
RT-PCR	SNV	57
RT-PCR Nichée	Hantavirus Murinae	236
	Hantavirus Arvicolinae	237
	Hantavirus	59
TOTAL		3 657

¹ Tous les examens n'ont pas été effectués sur tous les prélèvements (choix en fonction du contexte)

clinique et épidémiologique, de l'intervalle date de début de maladie et date de prélèvement, de la nature du prélèvement, et du volume disponible.

2 Les lots d'antigènes PUUV produits par le laboratoire coordonnateur n'étaient pas de qualité suffisante pour effectuer le test ELISA IgM PUUV.

Sur la base des résultats de ces examens, les 430 cas ont été classés dans les catégories suivantes :

- 1 cas d'infection récente par le virus Seoul, confirmé virologiquement (détection de l'ARN de SEOV par RT-PCR Nichée ciblant les virus associés aux rongeurs de la sous-famille des Murinae puis identification par analyse de la séquence).
- 53 cas d'infection récente par le virus Puumala, confirmés virologiquement (détection de l'ARN de PUUV par RT-PCR temps réel ou par RT-PCR Nichée ciblant les virus associés aux rongeurs de la sous-famille des Arvicolinae puis identification par analyse de la séquence).
- 119 cas d'infection récente par un hantavirus, vraisemblablement le virus Puumala (car exposés ou résidant dans la zone d'endémie), confirmés sérologiquement (présence d'IgM et d'IgG anti-hantavirus)
- 28 cas probables (présence d'IgM anti-hantavirus) d'infection récente par un hantavirus, vraisemblablement le virus Puumala (car exposés ou résidant dans la zone d'endémie)
- 23 cas d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus seulement)
- 92 cas avec absence d'infection ancienne ou récente par un hantavirus (absence d'IgM ou d'IgG anti-hantavirus sur au moins un prélèvement effectué au moins 10 jours après le début de la maladie)
- 114 cas avec un statut indéterminé (n'entrant pas dans les catégories précédentes)

La personne infectée par le virus Seoul est une femme âgée de 26 ans, résidant dans le département de l'Ain, serveuse de profession, vivant en milieu rural et présentant un syndrome fébrile avec insuffisance rénale aigue. Il s'agit du premier cas d'infection par le virus Seoul confirmé virologiquement en France mais aussi en Europe (Jameson LJ et al. Euro Surveill. 2013 Jan 3;18(1):4-7)

Parmi les autres cas, au final, 172 cas ont été considérés comme des cas confirmés d'infection récente par le virus Puumala ou CCIR PUUV (53 virologiquement et 119 sérologiquement). L'analyse des tendances portera sur ce nombre de cas (les cas probables ne sont pas inclus car parfois fausse positivité des IgM). Des fiches de renseignements (parfois imparfaitement complétées) ont été disponibles pour tous ces cas sauf un.

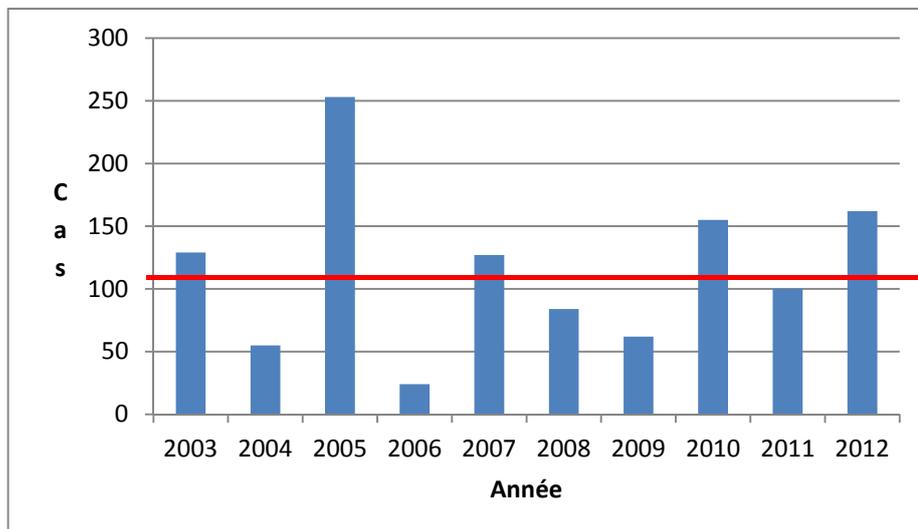
La médiane d'âge des 172 CCIR PUUV est de 42 ans (de 11 à 84 ans) et le sex-ratio (M/F) de 3,5 (valeurs conformes à celles observées ces 10 dernières années).

Trois patients résidant au Luxembourg étaient parmi ces 172 cas (un cas avec notion de voyage au Portugal le mois précédent le début de maladie).

Parmi les 169 CCIR PUUV résidant en France, 8 ont rapporté dans le mois précédant le début de maladie un voyage à l'étranger (Algérie, Belgique, Hollande, Italie, Luxembourg, Portugal, Suisse ou USA): tous résidaient dans le quart Nord-Est de la France métropolitaine avec une notion d'exposition dans ce dernier pays pour 5 d'entre eux (aucune notion d'exposition pour les 3 autres). Le virus PUUV a été détecté chez deux des 5 cas. Ils avaient manipulé du bois dans le Jura ou la Marne dans le mois précédant leur maladie.

Le nombre de CCIR PUUV détecté en 2012 se trouve nettement en dessus de la moyenne de cas détectés au cours des 10 dernières années (*Figure 1*). Sur cette période de 10 ans, nous observons des années dites « épidémiques » tous les deux ans alors qu'elles étaient observées tous les 3 ans dans les années 90. Cette tendance doit être confirmée en s'assurant qu'il n'y a pas en particulier une augmentation de la demande d'examens en 2012, entraînant une augmentation du nombre de cas détectés (travail en cours).

Figure 1 : Distribution annuelle des cas confirmés d'infection par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine, 2003-2012.

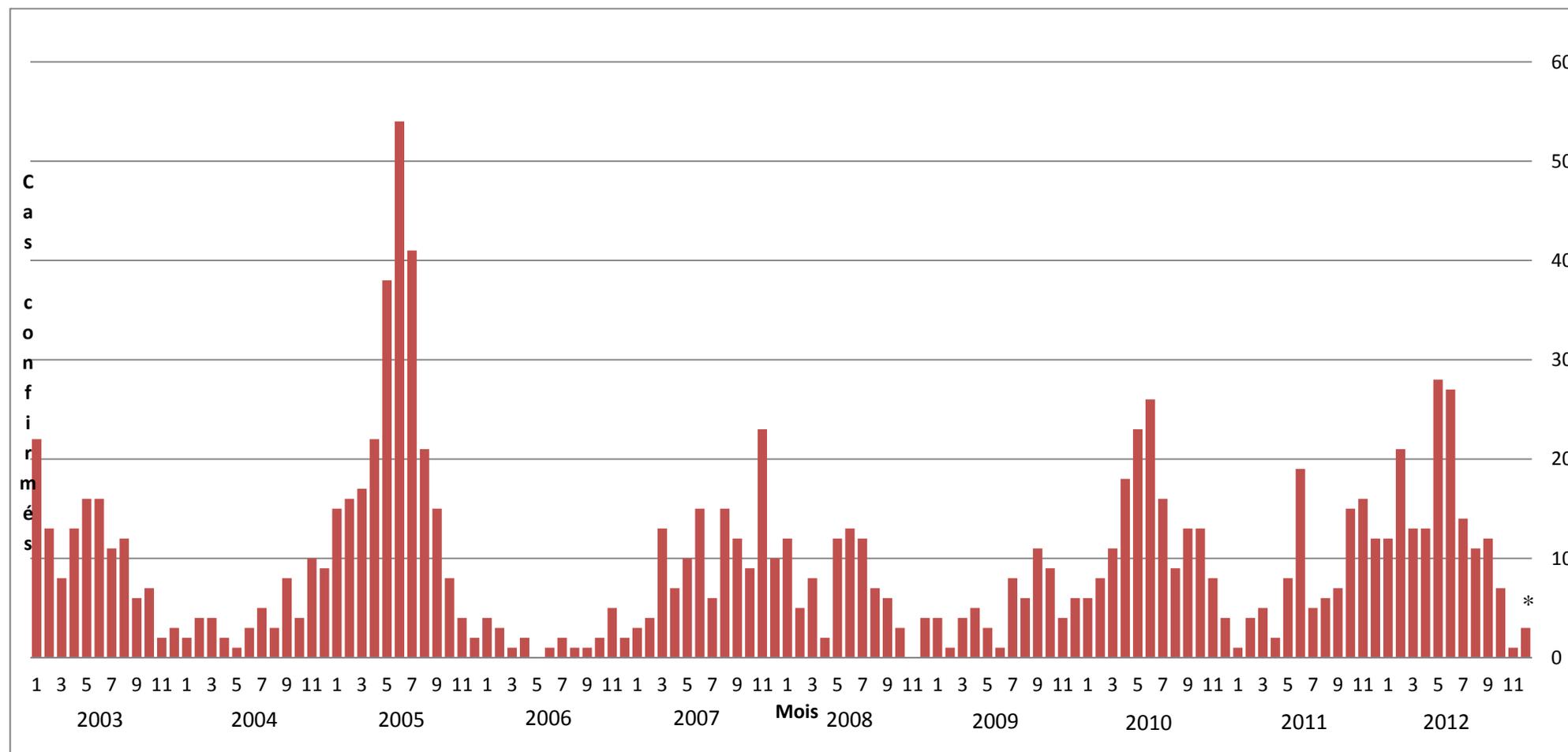


La distribution mensuelle des CCIR PUUV en France métropolitaine en 2012 indique un pic de détection de cas à la fin du printemps (en juin) comme c'est souvent le cas au cours des 10 dernières années, avec une augmentation progressive des cas au cours de l'automne précédent pour les années où le nombre de cas détectés est bien au-dessus de la moyenne (2005 et 2010), l'année 2007 constituant en soi une exception (maximum de cas détectés en novembre avec une augmentation progressive des cas à partir du printemps (*Figure 2*).

La distribution géographique selon les départements des 169 CCIR PUUV résidant en France métropolitaine est présentée sur la *Figure 3*. Les données se fondent d'abord 1/ sur le lieu (code postal) probable d'exposition (n=102), puis s'il n'est pas indiqué 2/ sur le lieu (code postal) de résidence du patient (n=62), et enfin s'ils ne sont pas indiqués 3/ sur le département d'origine du laboratoire ayant effectué le prélèvement (n=5). Les cas détectés en 2012 étaient tous dans le quart Nord-Est de la France classiquement touché par ces infections. Le foyer du Jura a été particulièrement actif (*Figure 3, Tableau 4*).

La distribution spatio-temporelle ne montre pas d'agrégats patents. Les foyers traditionnels d'endémie ont été actifs (Ardennes, Aisne, Oise et Jura), le département du Jura reflétant le mieux le cycle épidémique de 2012. Tous les cas détectés dans la Meuse l'ont été au cours des mois froids (*Tableau 4*). Les cas détectés sont très dispersés au niveau communal. Un seul cas est en général détecté par commune. Il n'y a que 9 communes où nous dénombrons plus d'un cas et au maximum 4 (la ville de Saint-Claude est la seule ville avec 4 cas, qui ne sont pas détectés au cours du même mois). Cela renforce l'idée que la surveillance ne détecte qu'une partie des CCIR PUUV, puisque le recrutement des patients cible les cas cliniques nécessitant une hospitalisation.

Figure 2 : Distribution mensuelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine Janvier 2003 – Décembre 2012 (sur la base de la date de prélèvement du patient)

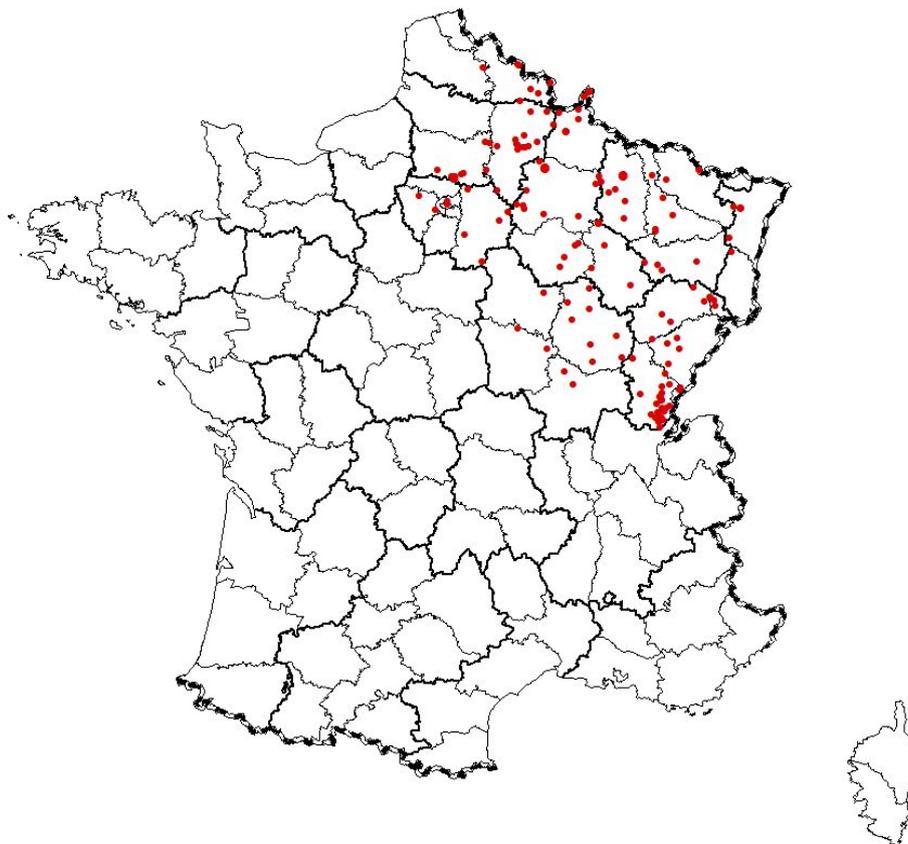


* Des prélèvements de patients effectués en décembre 2012 seront vraisemblablement analysés en janvier 2013

Tableau 7: Distribution selon les départements et les mois des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine Août 2011 – Décembre 2012

Région	Département	Année																		Total
		2011					2012													
		8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Nord Pas de Calais	59	1	2	4	1	2	1	2	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	17	
	62	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	
Picardie	02	2	1	2	7	2	1	2	1	1	3	2	1	1	1	2	0	1	30	
	60	0	0	0	0	1	1	0	0	1	3	1	1	2	1	1	0	0	12	
	80	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Champagne Ardenne	08	2	3	4	1	2	2	2	0	1	1	2	0	1	1	1	0	0	23	
	10	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	6	
	51	0	0	1	1	2	3	2	0	0	1	2	0	1	2	0	0	0	15	
	52	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	5	
Ile de France	75	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	77	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	1	0	0	6	
	78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	
	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	
	94	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Lorraine	54	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	3	0	0	1	0	0	0	7	
	55	0	0	0	0	1	1	7	3	2	0	0	0	0	0	0	0	1	15	
	57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	3	
	88	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	1	5	
Alsace	67	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	4	
	68	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Bourgogne	21	0	0	1	0	0	0	1	2	0	1	2	1	1	0	0	0	0	9	
	58	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	
	71	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	
	89	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	
Franche Comté	25	0	0	0	1	0	1	0	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	7	
	39	0	0	0	0	1	2	1	2	3	4	8	3	3	1	0	0	0	28	
	70	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	5	
	90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	4	
Non précisé		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Total		6	7	15	16	12	12	21	13	13	28	27	14	11	12	7	1	3	218	

Figure 3 : Distribution spatiale en France métropolitaine des 169 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala), détectés en 2012



Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS (échanges de données, périodicité, analyse commune)

Le laboratoire coordonnateur édite chaque début du mois M un rapport de son activité de surveillance sur la période écoulée entre le 1^{er} janvier de l'année et le mois M-1.

Ce rapport est diffusé par email au début du mois M :

- à l'unité des Maladies entériques, alimentaires, zoonotiques et à transmission vectorielle du département des maladies infectieuses de l'InVS
- au laboratoire associé (Institut Pasteur de Guyane)
- aux partenaires du réseau de laboratoires métropolitains effectuant un diagnostic de première intention.

Le laboratoire coordonnateur a également des échanges réguliers par email ou par téléphone avec l'unité des Maladies entériques, alimentaires, zoonotiques et à transmission vectorielle du département des maladies infectieuses de l'Institut de Veille Sanitaire, qui peuvent devenir fréquents lors d'alertes (cf. 4).

Région Antilles-Guyane (laboratoire associé)

- Réseau de partenaires

Depuis l'identification du premier cas humain d'infection autochtone par un hantavirus, des médecins hospitaliers ont été sensibilisés aux aspects cliniques et épidémiologiques liés à l'infection par cet agent pathogène, ainsi que sur les capacités techniques disponibles au laboratoire pour répondre à toute demande diagnostique (sérologique et/ou moléculaire) d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde.

- Activités

Au cours de l'année 2012, 15 échantillons biologiques provenant de patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde ont été adressés au laboratoire associé pour un diagnostic de première intention (vs 21 en 2011). Comme en 2011, aucun cas d'infection humaine par un hantavirus n'a été identifié au cours de cette année (Tableau 5).

Tableau 5 : Récapitulatif des demandes de diagnostic d'infection par un hantavirus de 2009 à 2012 (laboratoire associé).

Année	2009	2010	2011	2012
Echantillons reçus	10	25	21	15
IgM SNV et/ou RT-PCR positif	1	1	0	0

Ces demandes de diagnostic de première intention proviennent principalement des services hospitaliers de la Guyane (11/15-73,3% des échantillons), notamment du service de réanimation de l'hôpital de Cayenne (Tableau 6).

Tableau 6 : Origine des prélèvements adressés au laboratoire associé en 2012

Secteur	Guyane	Martinique	Guadeloupe	Total
Secteur hospitalier	11	1*	2*	14
Secteur privé	1	-	-	1
Total	12	1	2	15

* Données prenant en compte les demandes diagnostiques en lien avec l'alerte de septembre 2012 (cf. 4.)

2.2 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Cf. 3.

2.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Cf.3.

3 Alertes

3.1 Détection anormalement élevée de cas d'infection récente par le virus Puumala

Cette information a été communiquée par le laboratoire coordonnateur aux différents partenaires (InVS et réseaux de laboratoires) via les rapports mensuels (le premier datant du mois de mars 2012). Cette information a été diffusée aux Cellules de l'InVS en région (Cires) par notre correspondant à l'InVS, l'unité des Maladies entériques, alimentaires, zoonotiques et à transmission vectorielle du département des maladies infectieuses.

L'Antenne de Franche-Comté avait elle-même détectée une situation anormale en mai dans le Jura alors qu'elle n'était pas franchement observable au niveau des données du laboratoire coordonnateur. Ce décalage dans la détection d'un phénomène anormal s'explique par le délai qui s'écoule entre le moment du prélèvement du patient suspect et l'analyse des résultats par le laboratoire coordonnateur. L'analyse de nos données montre que les prélèvements reçus pour un diagnostic de première intention nous parviennent en médiane 5,5 jours après avoir été effectués alors que ceux de diagnostic de 2^{ème} intention nous parviennent en médiane 14 jours après avoir été effectués (la valeur médiane pour un des laboratoires effectuant ce diagnostic de 2^{ème} intention est de 22,5 jours). Si à ces délais est rajouté le délai maximum de rendu du résultat du CNR (7 jours calendaires), il s'écoule 3 à 4 semaines entre le début de la maladie et la confirmation d'un cas lors d'un diagnostic de

2^{ème} intention (ce qui est le cas pour 93% des 169 cas). L'effet d'alerte en est d'autant retardé. Des discussions ont été établies avec certains laboratoires pour raccourcir leurs délais d'acheminement des prélèvements vers le laboratoire coordonnateur.

3.2 Premier cas humain d'infection par le virus Seoul, confirmé virologiquement

Il s'agit de la première confirmation virologique (détection du virus) en France et en Europe. L'unité des Maladies entériques, alimentaires, zoonotiques et à transmission vectorielle du département des maladies infectieuses de l'InVS a été informé par le laboratoire coordonnateur à la mi-janvier 2013, dès que les résultats définitifs (analyse d'une séquence partielle) ont été disponibles pour ce cas survenu fin octobre.

La détection de ce cas a nécessité le respect de la réglementation « MOT », c'est-à-dire le rapatriement des prélèvements de la patiente susceptibles de contenir du virus Seoul et détenus par des laboratoires vers le laboratoire coordonnateur, les premiers n'ayant pas les autorisations de détention de ce type de prélèvements. Trois laboratoires ont été concernés. Cette réglementation pourrait devenir lourde dans son application si l'endémicité du virus est montrée et si les cas humains détectés deviennent plus nombreux.

3.3 Alerte au virus Sin Nombre dans le parc naturel de Yosemite aux USA

Le 2 septembre 2012, la Direction Générale de la Santé a lancé une alerte sanitaire faisant suite à l'alerte internationale lancée le 31 août 2012 par le CDC Atlanta USA, en conséquence à la survenue de plusieurs cas de syndrome pulmonaire à hantavirus (en l'occurrence virus Sin Nombre) chez des patients ayant séjourné dans le parc national de Yosemite en Californie aux USA (6 cas confirmés depuis le 10 juin et le 24 août 2012 dont 2 mortels). Les laboratoires du CNR ont donc été mobilisés afin de répondre au mieux à cette alerte.

Le laboratoire coordonnateur a reçu 108 prélèvements effectués chez 66 patients ayant effectué un séjour dans le parc national du Yosemite en 2012. Aucun ne présentait une forme clinique sévère. La recherche de virus Sin Nombre ou d'IgM (HTNV, SNV) et d'IgG anti-hantavirus (PUUV, HTNV, SNV) a été négative pour tous ces cas sauf 2. Un patient avait des IgG contre les 3 virus testés. Etant donné l'intervalle entre la date de début de maladie (05/08/12) et la date de prélèvement (03/09/12), les IgM anti-hantavirus (dont SNV) ont pu disparaître. Une infection par SNV à ce niveau d'examen ne pouvait être exclue. La personne faisait des footings 3 fois par semaine en forêt en zone d'endémie du virus Puumala. L'autre patient, vivant également en zone d'endémie du virus Puumala, avait des IgM dirigées contre le virus Hantaan (la recherche d'hantavirus était négative). Nous n'avons pas eu de 2^{ème} prélèvement pour confirmer l'infection récente par un virus de l'Ancien Monde. Un bilan des résultats d'examens a été communiqué par email, de manière hebdomadaire, pendant la période d'alerte (septembre à octobre) à l'InVS. Il a été ensuite communiqué à la Special Pathogens Branch du CDC à Atlanta (USA) et au programme Emerging and Vector-borne Diseases de l'European Centre for Disease Prevention and Control à Stockholm en Suède.

Le laboratoire associé a reçu 2 échantillons biologiques provenant de patients de retour de voyage dans cette région et présentant des signes cliniques évocateurs. Ces prélèvements provenaient respectivement de Martinique et Guadeloupe. Aucun d'eux ne présentait d'anticorps IgM anti-hantavirus du Nouveau Monde. Les résultats de ces investigations ont été communiqués conjointement au laboratoire coordonnateur à Lyon, à la Cire Antilles Guyane et à l'InVS.

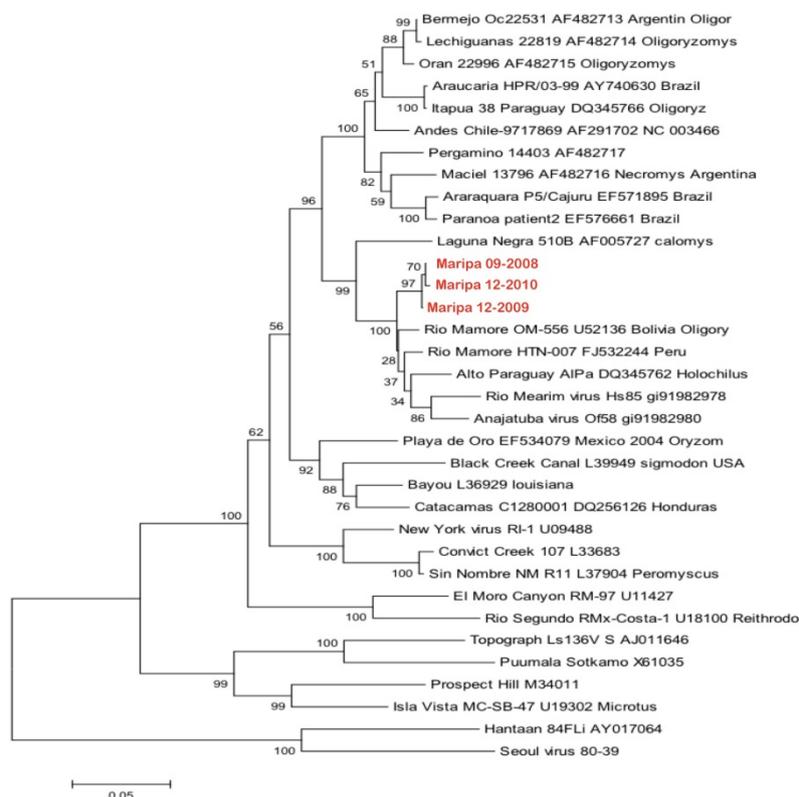
4 Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

4.1 Caractérisation moléculaire du virus Maripa

Contexte - En marge des activités de diagnostic et d'expertise dans le domaine des hantavirus, le laboratoire associé a finalisé en 2011 la caractérisation complète de l'hantavirus identifié à partir d'un prélèvement humain et baptisé « Virus Maripa ». Ce travail a été mené en étroite collaboration avec le laboratoire des Interactions Virus-Hôtes de l'Institut Pasteur de Guyane qui coordonne un projet visant à identifier au sein de la faune sauvage le réservoir rongeur de ce virus.

Résultats - Dans un premier temps, les analyses moléculaires partielles portant uniquement sur le segment S ont montré qu'il s'agissait dans les trois cas d'infection du même virus baptisé virus Maripa (99,7% d'identité en acides aminés) (*Figure 4*). Enfin, le séquençage complet du génome viral issu d'un des trois échantillons biologiques, comparé aux séquences complètes et connues des autres hantavirus du Nouveau Monde a montré que le virus Maripa est phylogénétiquement proche du virus Rio Mamore isolé en Bolivie (96% d'identité en acides aminés sur le segment S, 96,4% sur le segment M et 95,8% sur le segment L). Selon les critères du Comité International de Taxonomie des virus, le virus Maripa peut être considéré comme un nouveau variant du Virus Rio Mamore.

Figure 4 : Arbre phylogénétique obtenu par l'analyse des séquences en acides aminés du segment S de 34 souches d'hantavirus.



Ce travail a fait l'objet d'une publication internationale.

4.2 Description d'un nouvel hantavirus associé aux rongeurs de Madagascar

Contexte - Le laboratoire coordonnateur, dans le cadre de sa veille microbiologique, a participé à un projet de recherche associant également l'Institut Pasteur de Madagascar et l'Institut Pasteur de Guyane, et financé par le réseau international des Instituts Pasteur.

Jusqu'à présent, il n'y avait eu que des preuves sérologiques de la circulation d'hantavirus chez les rongeurs et les humains à Madagascar. Afin d'objectiver la présence d'un hantavirus sur cette île, une recherche de virus a été effectuée sur des petits mammifères terrestres sauvages.

Résultats – Nous avons prélevé les organes de 584 rongeurs appartenant à 7 espèces, d'octobre 2008 à Mars 2010, dans le couloir forestier d'Anjozorobe-Angavo, à 70 km au Nord de la capitale, Antananarivo. Un hantavirus a été détecté dans les foies de rats noirs (*Rattus rattus*) et d'un rat à queue touffue de Major (*Eliurus majori*), espèce endémique. L'analyse des séquences des domaines codants des segments S, M et L de ce virus a montré que le virus Anjozorobe (nom proposé) appartient au groupe phylogénétique du virus Thailand (THAIV), comprenant des hantavirus décrits en Asie du Sud-Est, et peut être considéré comme un variant de l'espèce THAIV. THAIV suspect d'être la cause de fièvre hémorragique avec syndrome rénal chez l'homme, des études complémentaires sont en cours à Madagascar pour apprécier le risque de transmission de ce virus à l'homme.

Ce travail a fait l'objet de la rédaction d'un manuscrit soumis à un journal international.

4.3 Recherche d'hantavirus en France métropolitaine chez le hérisson commun

Contexte – Toujours dans le cadre de sa veille microbiologique, le laboratoire coordonnateur, a initié une collaboration avec le Centre Vétérinaire de la Faune Sauvage et des Ecosystèmes des Pays de la Loire (CVFSE) situé au sein de l'Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes-Atlantique (Oniris) à Nantes. Jusqu'en 2006, un seul hantavirus était décrit comme associé aux petits mammifères insectivores (le virus Thottapalayam associé à la musaraigne musquée *Suncus murinus*). Depuis 2006, plus de 20 hantavirus ont été décrits chez les insectivores, comme des musaraignes (Famille des Soricidae, Ordre Soricomorpha), des taupes (Famille des Talpidae, Ordre Soricomorpha), et même des chauves-souris (Ordre Chiroptera). Notre projet a consisté à rechercher un hantavirus dans la collection d'organes de hérissons communs d'Europe (*Erinaceus europaeus*), dont dispose le CVFSE dans le cadre de son programme sur l'état de santé des écosystèmes. Il s'agit d'animaux très communs en France, appartenant à l'ordre Erinaceomorpha, proche de l'ordre Soricomorpha.

Résultats – Les organes (rein, poumon, foie et rate) de 55 hérissons prélevés entre mai 2010 et septembre 2012 en région nantaise ont été testés pour la présence d'ARN par une RT-PCR nichée pan-hantavirus ciblant une portion du gène L. Les résultats de cette recherche ont été négatifs. Cette recherche sera poursuivie en 2013 sur un nouveau lot de prélèvements.

4.4 Publications et communications

Matheus S, Lavergne A, de Thoisy B, Dussart P, Lacoste V. Complete genome sequence of a novel hantavirus variant of Rio Mamore virus, Maripa virus, from French Guiana. *J Virol*. 2012 Mai; 86(9):5399.

Heraud JM, Razafindralambo N, Andrianaivo T, Olive MM, Soarimalala V, Goodman SM, Reynes JM. First evidence of hantavirus circulation in terrestrial mammals from Madagascar. The 10th annual American Society for Microbiology Biodefense and emerging diseases research meeting. February 26-29 2012: Washington, DC