

**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  
2013**

# Résumé analytique

Le CNR des Hantavirus, nouvelle entité, a été attribué pour la période allant du 1<sup>er</sup> 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 :

- un très faible niveau de détection de cas humains d'infection par le virus Puumala en France métropolitaine en 2013 (15 cas), après une détection importante de cas en 2012 (169 cas pour une moyenne annuelle sur 10 ans de 95 cas). Cette période inter-épidémique, classique, correspond sans doute à une très faible circulation du virus chez son réservoir, le campagnol roussâtre *Myodes glareolus*.
- un cas humain mortel d'infection par l'hantavirus Maripa en Guyane a été détecté par le laboratoire associé (Institut Pasteur de Guyane) du CNR. Il s'agit du 4<sup>ème</sup> cas détecté dans ce département: trois ont été mortels. Le virus Maripa est un variant de l'hantavirus Rio Mamore décrit en Amérique du Sud.

# SOMMAIRE

1	Mission & organisation du CNR.....	4
2	Activités d'expertise .....	4
2.1	Confirmation de diagnostic (laboratoire coordonnateur): .....	4
2.2	Phylogénie de souches de virus Puumala: .....	6
3	Activités de surveillance .....	8
3.1	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	8
3.2	Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux.....	16
3.3	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance .....	16
4	Alertes .....	18
5	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....	18
5.1	Recherche d'hantavirus en France métropolitaine chez le hérisson commun ( <i>Erinaceus europaeus</i> ) .....	18
5.2	Epidémiologie des Infections par hantavirus chez l'enfant en France 2003-2012....	18
5.3	Publications et communications .....	19

## **1 Mission & organisation du CNR**

Par arrêté du 26 décembre 2011, le CNR des Hantavirus a été attribué pour la période allant du 1<sup>er</sup> 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 février 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 d'expertise**

### **2.1 Confirmation de diagnostic (laboratoire coordonnateur):**

Depuis octobre 2004, du fait de la commercialisation de trousse de diagnostic sérologique des hantavirus, le laboratoire coordonnateur n'est plus le seul laboratoire métropolitain à effectuer ce diagnostic. Des laboratoires de biologie médicale spécialisée ou non et des laboratoires hospitaliers proposent ce service (pour un coût d'environ 100 euros pour les laboratoires spécialisés, ce coût n'étant pas remboursé par la Sécurité Sociale). Dès fin 2004, il a été convenu entre le CNR et ces laboratoires que ces derniers adressent au CNR, à des fins de confirmation et de surveillance (centralisation des cas positifs) les prélèvements avec résultat positif mais également ceux avec un résultat douteux ou négatif peu compatible avec la présentation clinique. Cette collaboration est effective et le laboratoire coordonnateur du CNR profite de cette occasion pour les en remercier.

Ces laboratoires sont au nombre de 13, fin 2013. Dix utilisent un test de diagnostic rapide permettant de détecter des IgM dirigées contre le virus Puumala. Quatre autres

utilisent un test ELISA, deux permettant de détecter les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l’Ancien-Monde et les deux autres, les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l’Ancien Monde et du Nouveau Monde (un de ces laboratoire utilise également le test rapide). Ces laboratoires se trouvent pour la plupart dans la zone d’endémie des cas humains d’infection par le virus Puumala (*Tableau 1*). A noter la participation exceptionnelle et occasionnelle du CHU de Pointe à Pitre en Guadeloupe qui n’est pas cité dans ce tableau.

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

<b>Laboratoires</b>	<b>Trousses de diagnostic sérologique Hantavirus</b>
Amiens CHU (80)	Reagentia POC Puumala IgM
Besançon CHRU (25)	Reagentia POC Puumala IgM
Biomnis (69)	Focus Hantavirus IgG et IgM
Bordeaux CHU (33)	Reagentia POC Puumala 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

Un total de 144 prélèvements a été reçu de ces laboratoires. Leurs résultats d’examens nous étaient connus pour 139 de ces prélèvements. Tous ont été testés pour la détection d’IgG et d’IgM sauf 29 testés uniquement avec le kit de diagnostic rapide IgM. Il y a eu concordance de résultats des IgG anti-hantavirus pour 70% des prélèvements (77/110) avec un assez bon coefficient de Kappa pondéré (0.40 ; IC 95% : [0,22-0,58]) (*Tableau 2*). La concordance de résultats des IgM anti-hantavirus était de 55,4% (77/139) avec également un assez bon coefficient (0.37 ; IC 95% : [0,22-0,53]) (*Tableau 3*).

*Tableau 2 : Résultats obtenus pour la détection des IgG anti-hantavirus (technique ELISA)*

Laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Douteux	Positif	
Négatif	50 (1)	5 (05)	6 (0)	61
Douteux	10 (0,5)	0 (1)	0 (0,5)	10
Positif	16 (0)	1 (0.5)	22 (1)	39
Total	76	6	28	110

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Tableau 3 : Résultats obtenus pour la détection des IgM anti-hantavirus (technique ELISA)

Autres Laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Douteux	Positif	
Négatif	45 (1)	9 (05)	8 (0)	62
Douteux	5 (0,5)	1 (1)	3 (0,5)	9
Positif	17 (0)	20 (0.5)	31 (1)	68
Total	67	30	42	139

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Il n'est pas possible d'identifier un laboratoire ou une trousse de réactifs particulièrement concerné par ces discordances de résultats, étant donné la faiblesse des effectifs (intervalle de confiance très large). Dans la pratique, les discordances de résultats sont mentionnées au laboratoire concerné, dès qu'elles sont observées. Les résultats obtenus par le laboratoire coordonnateur ont été confirmés par un deuxième essai lorsqu'ils étaient discordants avec ceux du laboratoire transmetteur.

Ces pourcentages de concordance et ces coefficients de Kappa ne sont pas forts. Côté IgG, une explication serait la disproportion entre les cas confirmés et les cas non confirmés (incidence de cas faible en 2013). Côté IgM, une explication est la disponibilité seulement en fin d'année du test IgM anti-Puumala qui fait que nous n'avons pas détecté certains cas. Les performances des tests commerciaux peuvent être également remises en cause car leur évaluation de performance a porté sur des lots de sérums de référence et non sur des prélèvements de patients collectés en situation réelle.

## 2.2 Phylogénie de souches de virus Puumala:

Actuellement, la séquence d'une seule souche française du virus Puumala (PUUV) est disponible dans GenBank (segment S complet et M partiel). Il s'agit d'une souche issue de rongeur capturé dans le nord du Jura. Le laboratoire coordonnateur a donc initié un travail de caractérisation phylogénétique des souches circulant sur le territoire afin de connaître l'origine des souches et l'introduction éventuelle de nouveau topotype.

Le laboratoire coordonnateur avait détecté en 2012 par technique moléculaire une souche de PUUV dans le sérum de 53 patients. Les sérums de 43 prélèvements étaient en quantité suffisante pour une nouvelle détection de la souche et un séquençage du génome. Trois RT-PCR nichée couvrant l'ensemble de la partie codante du segment ont été utilisées et les produits d'amplification ont été disponibles pour 17 pour la partie 1 du segment, 19 pour la partie 2 et 17 pour la partie 3. Une séquence lisible a ensuite été obtenue pour respectivement 12, 15 et 14 de ces produits, ce qui concernait 22 des 43 souches potentiellement disponibles. Au final, la séquence complète de la région codante de S n'a été obtenue que pour 7 souches. Il s'agit cependant des 7 premières séquences d'origine humaine disponibles. Ces séquences ont été alignées avec un jeu de 117 séquences complètes de N disponibles dans GenBank puis une analyse phylogénétique (méthode de vraisemblance GTR+G) a été effectuée sur l'ensemble du jeu de séquences puis sur un nombre réduit représentatives des topotypes existants (afin de « faciliter » la lecture de l'arbre) (Figure 1).

Figure 1 : Arbre phylogénétique basé sur la séquence codante complète du gène S de 7 souches françaises de PUUV détectées chez l'homme en 2012 (●) et de souches représentatives des différents topotypes du PUUV (la souche française détectée chez un rongeur est signalé par une flèche)



Les 7 souches détectées sont toutes très proches des souches détectées en Allemagne et en Belgique et s'inscrivent dans le cluster de souches de l'Europe de l'Ouest (Figure 1). Ces 7 souches sont issues de 3 des 4 foyers d'endémie français : sud de l'Oise, Aisne et Ardennes. Aucune souche d'origine du Jura n'a pu être complètement séquencée. La souche du Jura détectée chez un rongeur est plus éloignée de ces souches et est plus proche de souches d'Europe centrale

Les prélèvements utilisés n'étaient pas forcément adaptés à la détection du virus (nature et conservation avant réception) et nos détections par RT-PCR en temps réel montraient de faibles charges virales pour ces sérums humains. Ceci peut expliquer les échecs d'amplification. Néanmoins un gros travail reste à faire pour optimiser les amorces utilisées et disposer de plusieurs jeux afin de pouvoir obtenir la séquence complète de S mais aussi de M pour toutes les souches.

### **3 Activités de surveillance**

#### **3.1 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 (cf. 2.2.)

- Prélèvements réceptionnés

Le laboratoire coordonnateur a reçu en 2013, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 270 prélèvements (tous des sérums) provenant de 227 patients (37 ayant eu un 2<sup>ème</sup> prélèvement et 6 un 3<sup>ème</sup>). 45% de ces prélèvements ont été adressés par des laboratoires pour un diagnostic de 1<sup>ère</sup> intention. Peu de cas avec résultats positifs ont été reçus cette année pour confirmation, conséquence d'une faible détection de cas par les laboratoires effectuant le diagnostic de 1<sup>ère</sup> intention.

Tous les prélèvements reçus pour un diagnostic de 1<sup>ère</sup> intention ont une origine hospitalière (*Tableau 4*). Il en est de même pour ceux reçus pour un diagnostic de 2<sup>ème</sup> intention. Le non remboursement des frais de diagnostic sérologique explique vraisemblablement le faible niveau de demande de cet examen auprès des médecins libéraux.

Une fiche de renseignements (pas toujours parfaitement remplie) a été reçue pour 90% des prélèvements (204/227). Ce très bon pourcentage a été obtenu grâce à de nombreuses relances auprès des prescripteurs (la moitié des fiches sont seulement reçues en même temps que les prélèvements).

Les prélèvements provenaient de patients résidant en France sauf ceux de 2 patients résidants et exposés dans leur pays d'origine (Suisse et Serbie).

Tableau 4 : Origine des prélèvements reçus par le laboratoire coordonnateur

Diagnostic (n = 270)	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 1 <sup>ère</sup> intention (n = 126)	Alsace	CH Mulhouse (68)	2
	Antilles Guyane	CH Cayenne	1
	Aquitaine	CH Dax (40)	4
	Auvergne	CHU Clermont-Ferrand (63)	8
	Basse Normandie	CHU Caen (14)	4
	Bourgogne	CHU Dijon (21)	2
	Bretagne	CHU Brest (29)	1
		CHU Rennes (35)	1
	Centre	CHU de Tours (37)	1
	Champagne-Arde.	CH de Charleville-Mézières	1
	Ile de France	Hôpital Bichat (75)	21
		Hôpital Necker-Enf. Mal. (75)	9
		Hôpital Pitié Salpêtrière (75)	1
		Hôpital R. Debré (75)	5
		Hôpital Saint-Antoine (75)	3
		Hôpital Saint-Louis (75)	1
		Hôpital Tenon (75)	10
		Institut Pasteur – Centre Méd. (75)	4
		Hôpital Foch (92)	1
		Hôpital de Garches (92)	1
	Languedoc Roussillon	CHIC Le Raincy-Montfermeil (93)	1
		Hôpital Bicêtre (94)	1
	Limousin	CHU de Nîmes (30)	3
		CHRU Montpellier (34)	1
	Limousin	CHU de Limoges (87)	2
	Lorraine	CHU de Nancy (54)	1
		HIA Metz (57)	1
		CHR de Metz-Thionville	10
	Midi Pyrénées	CHU de Toulouse (31)	4
	Nord Pas de Calais	H. privé Bois-Bernard (62)	1
	Pays de la Loire	CHU d'Angers	2
	Picardie	CHU d'Amiens	1
		CH de Beauvais (60)	1
Provence Alpes Côte d'Azur	CH d'Aix	1	
	CH de Cannes	3	
Rhône Alpes	CH Montélimar (26)	1	
	CHU Lyon (69)	8	
	H. Femme Mère Enfant (69)	1	
	CH Chambéry (73)	2	
de confirmation (n = 144)	Alsace	CHRU Strasbourg (67)	5
	Aquitaine	CHU Bordeaux (33)	1
	Champagne-Ardenne	CHU de Reims (51)	2
		CH de Charleville-Mézières (08)	23
	Franche	CHRU de Besançon (25)	6
	Ile de France	Laboratoire Cerba (75)	58
	Lorraine	CHRU Nancy (54)	3
	Nord Pas de Calais	CHRU de Lille (59)	25
	Picardie	CH de Laon (02)	1
		LABM Coquelet et coll. Laon (02)	1
		CH de Saint Quentin (02)	0
		CHU Amiens (80)	0
Rhône-Alpes	Laboratoire Biomnis (69)	12	
Antilles-Guyane	CHU Pointe à Pitre (971)	7	

- 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 Puumala (PUUV), Seoul (SEOV) Hantaan (HTNV) ou Sin Nombre (SNV) et IgG anti-PUUV, SEOV, HTNV, ou SNV + IF Ig anti-SEOV, HTNV ou 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 5*).

*Tableau 5 : Examens effectués par le labo. coordonnateur dans le cadre de la surveillance*

Examens		Effectifs <sup>1</sup>
IF Ig	PUUV	270
	HTNV	213
ELISA IgM	PUUV	46 <sup>2</sup>
	SEOV	175
	HTNV	246
	SNV	61
ELISA IgG	PUUV	270
	SEOV	179
	HTNV	92
	SNV	61
RT-PCR temps réel	PUUV	103
RT-PCR Nichée	Hantavirus Murinae	104
	Hantavirus Arvicolinae	105
	Hantavirus	0
TOTAL		1 925

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 validés sont disponibles depuis la mi-novembre 2013.

Sur la base des résultats de ces examens, les 227 cas ont été classés dans les catégories suivantes :

- 10 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).
- 5 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)
- 10 cas probables (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA et d'Ig par IF) d'infection récente par un hantavirus, vraisemblablement le virus Puumala (car exposés ou résidant dans la zone d'endémie)
- 17 cas possibles (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA seulement) d'infection récente par un hantavirus, vraisemblablement le virus Puumala (car exposés ou résidant dans la zone d'endémie)
- 14 cas d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus seulement), exposés ou résidant dans la zone d'endémie.

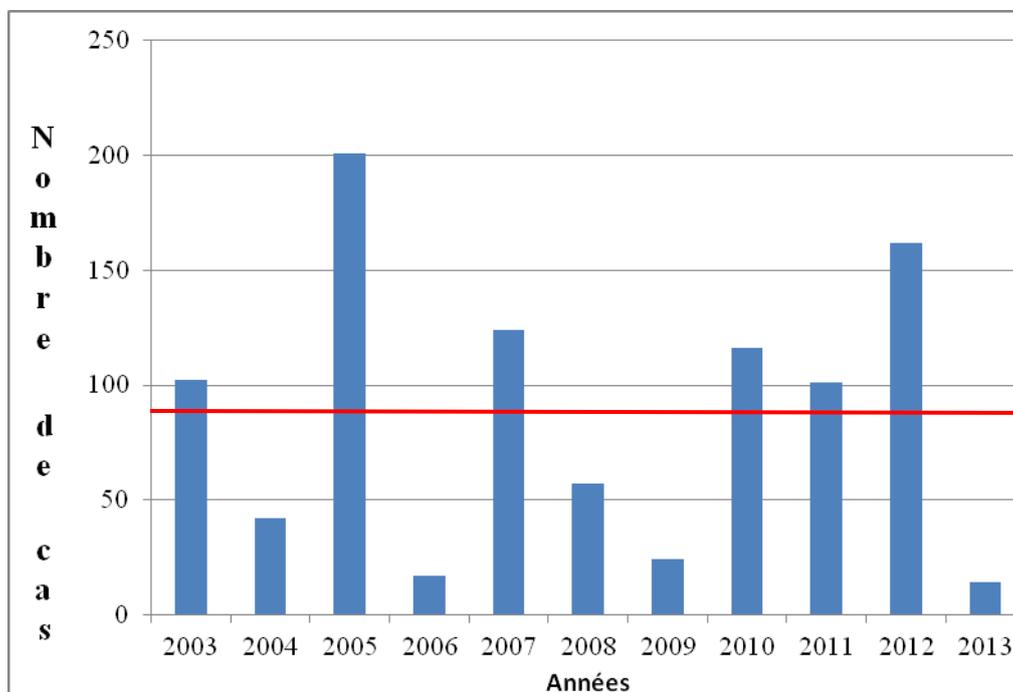
- 88 cas avec absence d'infection ancienne ou récente par un hantavirus (absence d'IgM ou d'IgG anti-hantavirus sur au moins un prélèvement effectué au moins 10 jours après le début de la maladie)
- 83 cas avec un statut indéterminé (n'entrant pas dans les catégories précédentes)

Au final, 15 cas ont été considérés comme des cas confirmés d'infection récente par le virus Puumala ou CCIR PUUV (10 virologiquement et 5 sérologiquement). L'analyse des tendances portera sur ce nombre de cas. Des fiches de renseignements (parfois imparfaitement complétées) ont été disponibles pour tous ces cas sauf un.

La médiane d'âge des 15 CCIR PUUV est de 45,2 ans (de 26 à 73 ans) et le sex-ratio (M/F) de 2,75 (valeurs conformes à celles observées ces 10 dernières années).

Le nombre de CCIR PUUV détecté en 2013 se trouve très nettement en dessous de la moyenne de cas détectés au cours des 11 dernières années (*Figure 2*). Sur cette période, nous observons des années dites « épidémiques » tous les deux ans alors qu'elles étaient observées tous les 3 ans dans les années 90. Ces variations d'incidence sont bien connues et ne sont pas dues sur un biais de recrutement. Elles sont à mettre en rapport avec la dynamique de la population de rongeurs et à la dynamique de circulation du virus dans cette population. Il n'existe pas de surveillance de la population des rongeurs mais les données recueillies auprès de mammalogistes font état d'une très faible population du rongeur hôte de PUUV en 2013. Peu de rongeurs, peu d'excrétats infectés dans la nature donc peu de source d'infection pour l'homme.

*Figure 2 : Distribution annuelle des cas confirmés d'infection par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine, 2003-2013 (le trait rouge figure la moyenne sur la période).*

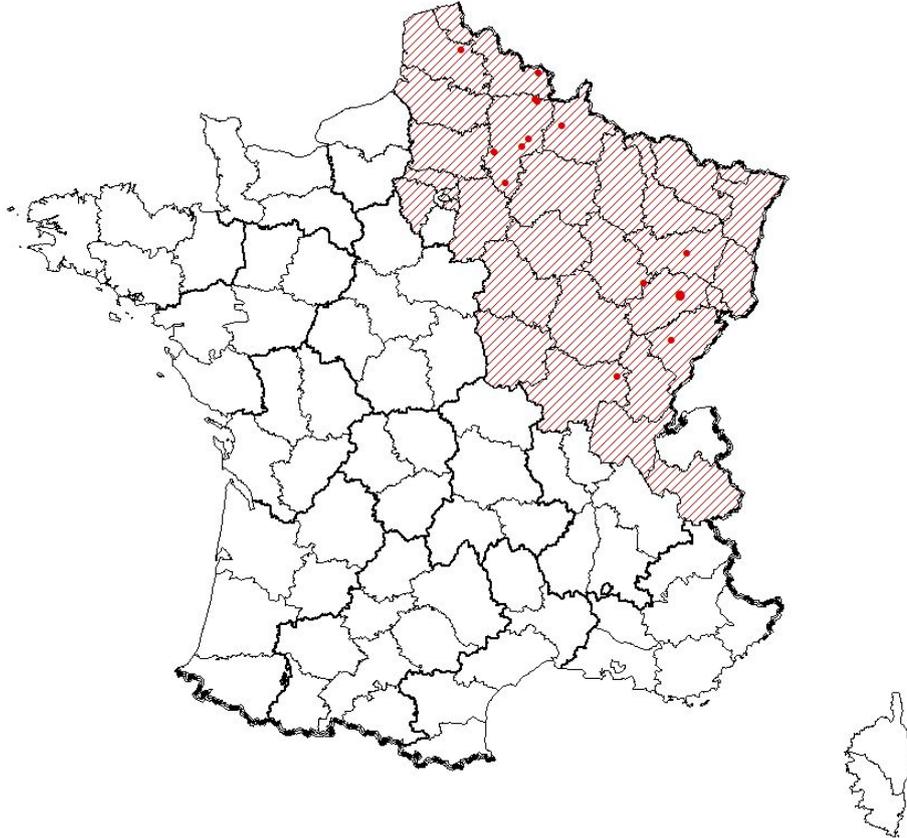


Le pic de détection habituellement retrouvé à la fin du printemps (en juin) n'est pas observé en 2013 (*Figure 3*). Le nombre de cas très faible explique sans doute cela.

La distribution géographique selon les départements des 15 CCIR PUUV résidant en France métropolitaine est présentée sur la *Figure 4*. Les données se fondent d'abord 1/ sur le lieu (code postal) probable d'exposition (n=8), puis s'il n'est pas indiqué 2/ sur le lieu (code

postal) de résidence du patient (n=7), et enfin s'ils ne sont pas indiqués 3/ sur le département d'origine du laboratoire ayant effectué le prélèvement (n=0). Les cas détectés en 2013 étaient tous dans le quart Nord-Est de la France classiquement touché par ces infections. (Figure 4, Tableau 6).

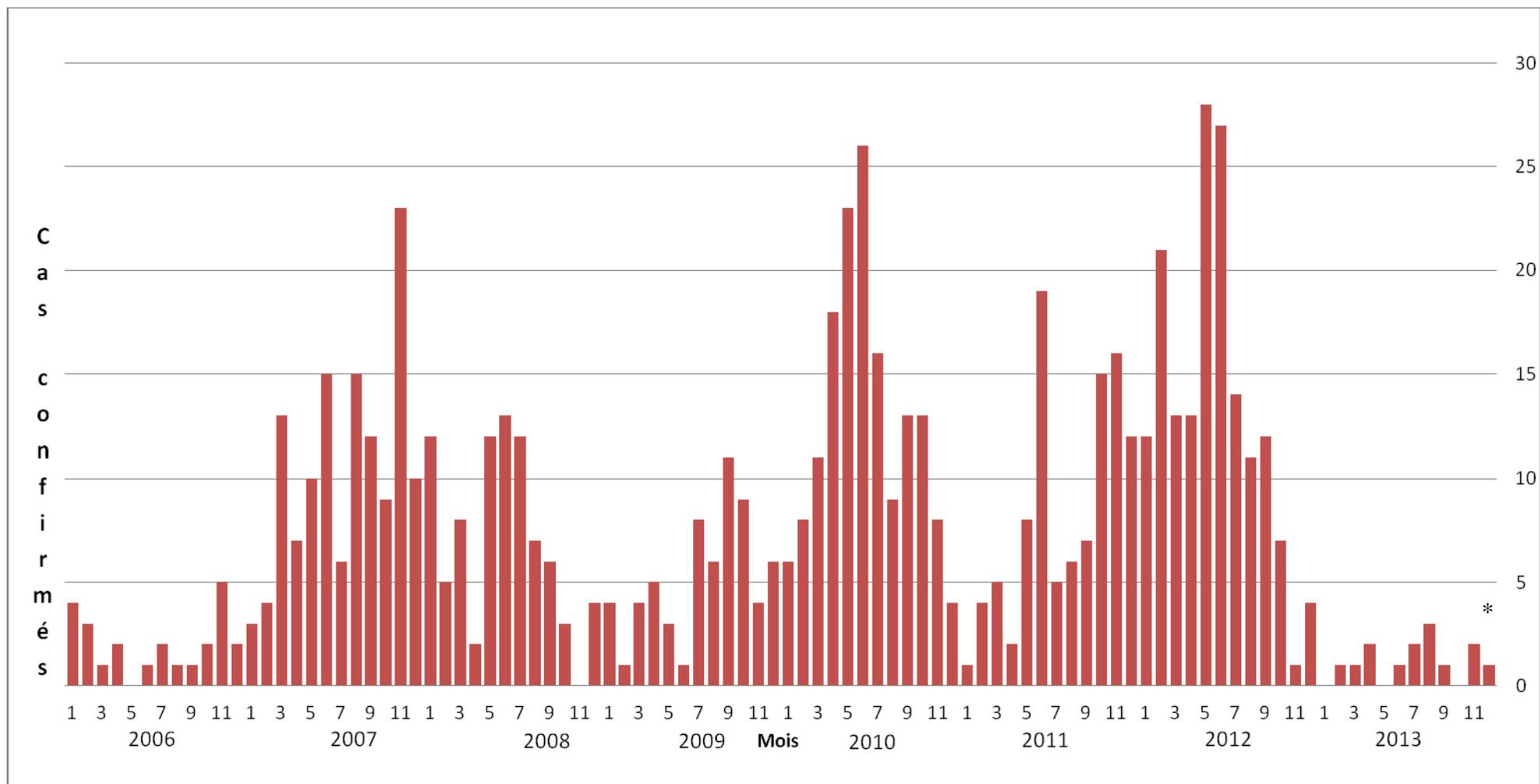
Figure 4 : Distribution spatiale en France métropolitaine des 15 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala), détectés en 2013 (en hachuré, les départements où des cas ont été détectés sur la période 2003-2012)



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

La distribution spatio-temporelle ne montre pas d'agrégats patents. Le foyer de l'Aisne a été le plus actif parmi les foyers traditionnels d'endémie (Ardennes, Aisne, Oise et Jura) (Tableau 6).

Figure 3 : Distribution mensuelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine Janvier 2006 – Décembre 2013 (sur la base de la date de prélèvement du patient)



\* Des prélèvements de patients effectués en décembre 2013 seront vraisemblablement analysés en janvier 2014

Tableau 6 : Distribution spatio-temporelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus en France métropolitaine Janvier 2012 – Décembre 2013 (sur la base du département d'exposition ou de résidence si lieu d'exposition non précisée et sur la base de la date de prélèvement du patient ; un des patients détectés en 2013 a été prélevé fin décembre 2012 ; 7 patients détectés en 2012 et prélevés en 2011 ne sont pas figurés)

Région	Département	Année																									
		2012												2013													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Nord Pas de Calais	59	1	2	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
	62	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
Picardie	02	1	2	1	1	3	2	1	1	1	2	0	1	16	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0	1	1	6
	60	1	0	0	1	3	1	1	2	1	1	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Champagne Ardenne	08	2	2	0	1	1	2	0	1	1	1	0	0	11	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
	10	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	51	3	2	0	0	1	2	0	1	2	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ile de France	52	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	75	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	77	0	0	0	0	1	1	0	0	2	1	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	78	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	93	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lorraine	54	0	1	0	0	1	3	0	0	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	55	1	7	3	2	0	0	0	0	0	0	0	1	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	57	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	88	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alsace	67	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	68	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bourgogne	21	0	1	2	0	1	2	1	1	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	58	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	71	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	89	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Franche Comté	25	1	0	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	6	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	39	2	1	2	3	4	8	3	3	1	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	70	0	1	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	4	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	90	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhône-Alpes	01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>		<b>12</b>	<b>21</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>28</b>	<b>27</b>	<b>14</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>164</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>14</b>

\* Cas d'infection récente par le virus Seoul

Le laboratoire coordonnateur édite chaque début du mois M un rapport de son activité de surveillance sur la période écoulée entre le 1<sup>er</sup> 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.

### Région Antilles-Guyane (laboratoire associé)

#### - Réseau de partenaires

Depuis l'identification du premier cas humain d'infection autochtone par un hantavirus du Nouveau Monde en 2008, des médecins hospitaliers sont sensibilisés aux aspects cliniques et épidémiologiques liés à l'infection par ce virus émergent en Guyane, ainsi que sur les capacités techniques disponibles au laboratoire pour répondre à toute demande diagnostique (sérologique et/ou moléculaire). Il en est de même pour nos partenaires hospitaliers de Martinique et Guadeloupe.

#### - Activités

En 2013, le laboratoire associé a reçu 35 échantillons biologiques provenant de 31 patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde (vs 15 en 2012). Tous ces prélèvements ont été reçus pour un diagnostic de première intention (*Tableau 7*). Un cas humain d'infection par le virus Maripa a été détecté par approche moléculaire. Il s'agit d'un patient de sexe masculin âgé de 67 ans résidant en zone périurbaine, hospitalisé et décédé au service de réanimation du Centre Hospitalier de Cayenne pour détresse respiratoire associée à une toux persistante depuis deux jours, une hyperthermie et des nausées. Aucun cas n'a été rapporté dans son entourage. Par ailleurs, des captures de rongeurs ont été faites autour du domicile du patient. Cette démarche s'inscrit dans un programme de recherche porté par le laboratoire des interactions Virus-Hôtes visant déterminer le rongeur réservoir de ce virus en Guyane

*Tableau 7 : Récapitulatif des demandes de diagnostic d'infection par un hantavirus de 2009 à 2013 (laboratoire associé).*

Année	2009	2010	2011	2012	2013
Echantillons reçus	10	25	21	15	35
IgM SNV et/ou RT-PCR positif	1	1	0	0	1

Ces demandes de diagnostic proviennent principalement du Centre Hospitalier de Cayenne (34/35 - 97% des échantillons) et notamment du service de réanimation (*Tableau 8*). Par ailleurs cette année, le laboratoire a reçu 4 demandes de diagnostic d'infection en provenance du Centre Hospitalier de Pointe de Pitre, Guadeloupe.

Tableau 8 : Origine des prélèvements adressés au laboratoire associé en 2013

Secteur	Guyane	Martinique	Guadeloupe	Total
Secteur hospitalier	30	0	4	34
Secteur privé	1	-	-	1
Total	31	0	4	35

### 3.2 Détection et investigation des cas groupés et des phénomènes anormaux

Deux cas confirmés d'infection récente par le virus Puumala sont membres de la même famille avec une même commune d'exposition et la survenue de la maladie à 3 semaines d'intervalle au mois de mars. Il n'y a pas eu d'investigation menée sur ces cas. Il n'y a pas eu d'observation de phénomènes anormaux en métropole comme dans la région Antilles-Guyane.

### 3.3 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Le CNR s'est intéressé à l'origine géographique et au volume des prélèvements reçus pour un diagnostic de 1<sup>ère</sup> intention au sein du réseau de laboratoires partenaires et au CNR. Il s'agissait de savoir si des cas suspects étaient prélevés sur tout le territoire métropolitain et en quelle proportion. Il s'agissait également de voir si l'année 2012 avait été « épidémique » où si le nombre de cas détectés était associés à un accroissement de la demande d'examens. Ces données sont disponibles pour les années 2011 et 2012 (les données pour l'année 2013 ne sont pas toutes encore reçues et n'ont pu être analysées).

Les demandes d'examens étaient de 1720 en 2011 et de 2081 en 2012. Un total de 1569 et 1872 patients étaient respectivement concernés en France métropolitaine. Les demandes sont plus abondantes au cours du printemps ou de l'été. L'alerte Sin Nombre au parc national de Yosemite s'est traduit par un pic de demande en septembre 2012. (Figures 5). Ces patients ont été prélevés pour la grande majorité dans la zone d'endémie du virus Puumala : 89% (1399/1569) en 2011 et 83% (1184/1532) en 2012 (Figures 6A et 6B).

Sur la base de 100 cas confirmés d'infection récente par PUUV en 2011 et 163 en 2012, le pourcentage de cas détectés en 2012 est significativement plus élevé en 2012 ( $p=0.01$ ), traduisant une année « épidémique ».

Figure 5 : Distribution mensuelle des patients ayant une demande d'examen « Sérologie hantavirus » et des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (sur la base de la date de prélèvement), France métropolitaine 2011 – 2012.

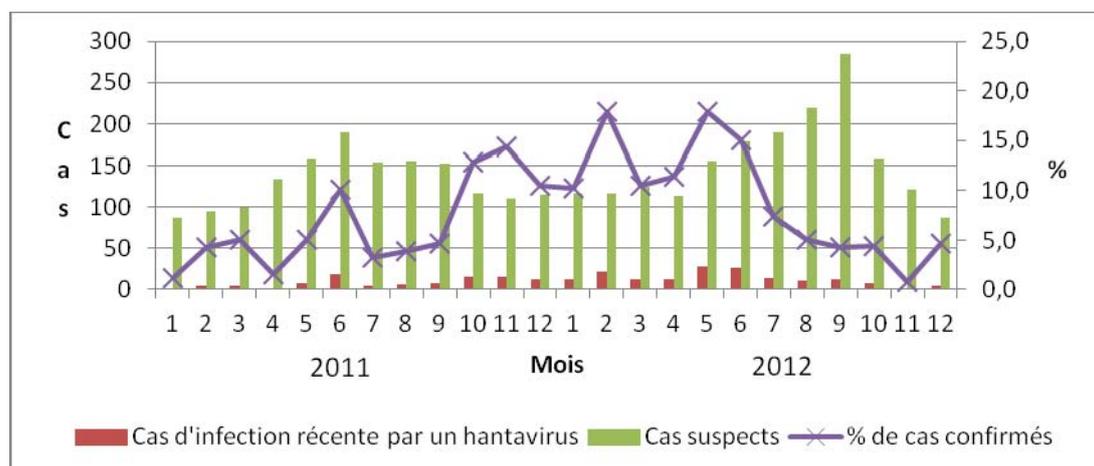
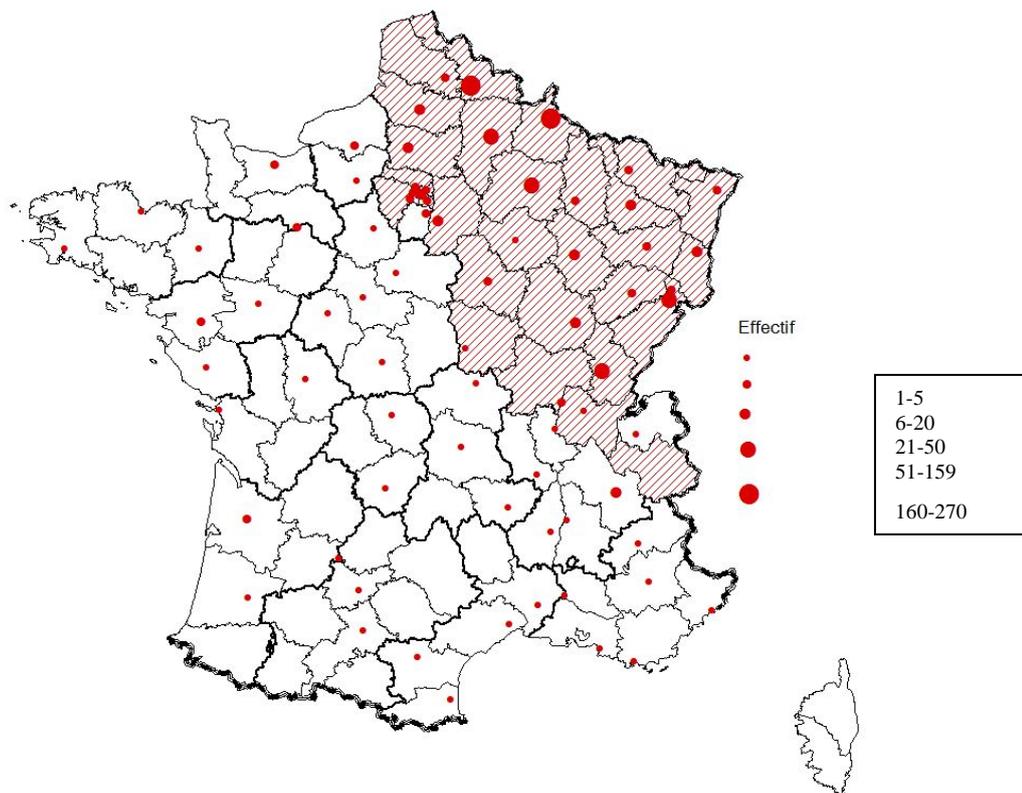
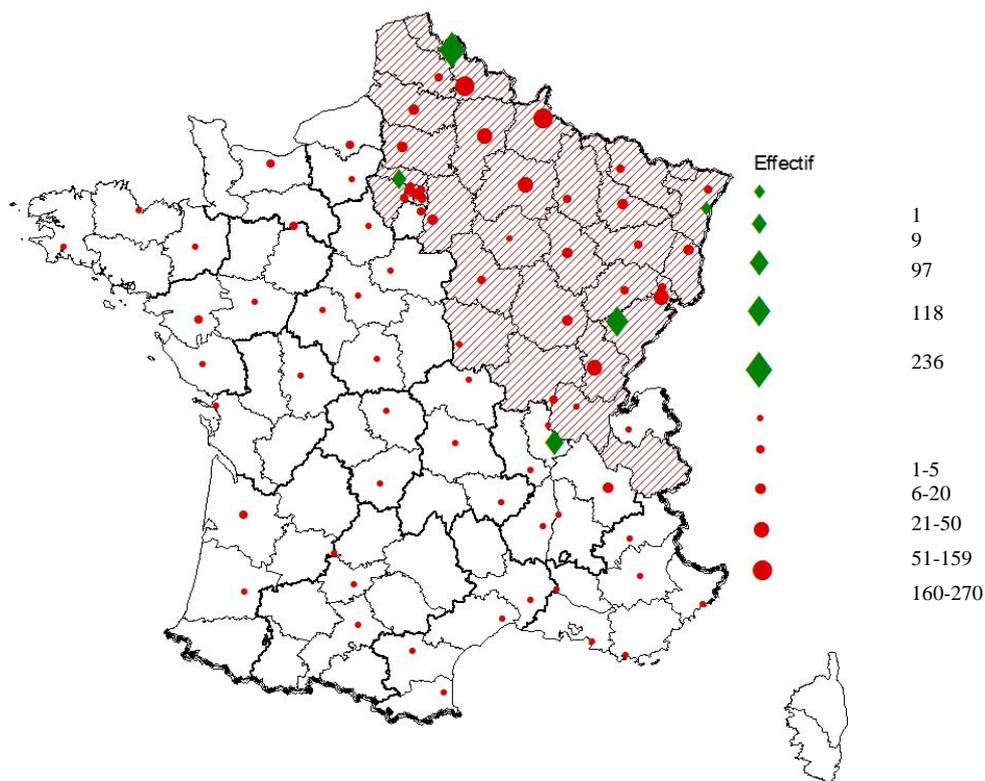


Figure 6 : Distribution spatiale des patients ayant une demande d'examen « Sérologie hantavirus » en France métropolitaine (rond rouge). La distribution se fonde sur le département du lieu de prélèvement ou sur celui du laboratoire transmetteur si le premier n'est pas connu ; en hachuré, les départements où des cas confirmés d'infection par un hantavirus ont été détectés de 2003 à 2012). les losanges verts correspondent aux demandes reçues par des laboratoires (Cerba, Biomnis, CHU Lille, CHU Besançon, CHU Strasbourg) et dont l'origine des prélèvements est inconnue (461 cas)

A : 2011



B 2012



## 4 Alertes

Alors que l'année 2012 avait été riche en alertes en métropole (détection anormalement élevée de cas d'infection récente par le virus Puumala, première confirmation virologique au niveau européen d'un cas d'infection par le virus Seoul, et alerte au virus Sin Nombre dans le parc naturel de Yosemite aux USA), aucune alerte n'est à rapporter en 2013.

Pour la région Antilles-Guyane, nous relèverons l'alerte suite au cas d'infection mortel par le virus Maripa. Il s'agit du 4<sup>ème</sup> cas détecté depuis la détection du premier cas en 2008 parmi lesquels 3 se sont avérés mortels.

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

### 5.1 Recherche d'hantavirus en France métropolitaine chez le hérisson commun (*Erinaceus europaeus*)

**Contexte** – Dans le cadre de sa veille microbiologique, le laboratoire coordonnateur, a poursuivi sa 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 portant sur la recherche d'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. 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).

**Résultats** – Les organes (rein, poumon, foie et rate) de 46 hérissons prélevés en décembre 2011, août 2012 et septembre 2013 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 2014 sur un nouveau lot de prélèvements.

### 5.2 Epidémiologie des Infections par hantavirus chez l'enfant en France 2003-2012

**Contexte** – La fièvre hémorragique à syndrome rénal touche principalement l'adulte et peu d'études pédiatriques ont été réalisées. Le laboratoire coordonnateur a été partenaire d'une étude visant à définir les caractéristiques clinico-épidémiologiques de ces infections chez l'enfant et l'adolescent en France. Cette étude a été conduite par le Dr. Marie Rohr dans le cadre de son travail de mémoire de Diplôme d'Etudes Spécialisées de pédiatrie. Il s'agissait d'une étude rétrospective observationnelle portant sur des patients âgés de moins de 18 ans ayant une infection récente par un hantavirus prouvée sérologiquement entre le 01/01/2003 et le 31/12/2012.

**Résultats** – Les données étaient disponibles pour 24 des 26 patients détectés. Le sexe ratio était de 2/1 et l'âge médian de 16 ans et 7 mois. La répartition géographique était limitée à la zone connue d'endémie. Les signes cliniques principaux étaient les nausées et

vomissements (79%), la fièvre (75%), les données abdominales (62%), et les céphalées (58%). Les signes biologiques initiaux étaient une insuffisance rénale avec une médiane de créatinine initiale à 126 µmol/L (62-1048 µmol/L), une thrombopénie avec une médiane à 77 000 / mm<sup>3</sup> (34 000-260000 / mm<sup>3</sup> et un syndrome inflammatoire modéré avec une médiane de Protéine C Réactive à 36 mg/L (8,7-151 mg/L). Deux patients avaient été dialysés et 83% n'avaient pas de séquelles à 2 mois.

**Conclusions** – Les signes cliniques et biologiques observés sont superposables à ceux rapportés dans les 4 autres études pédiatriques publiés. Cette étude confirme la différence de présentation clinique entre l'enfant et l'adulte marquée en particulier par la fréquence élevée des signes digestifs chez l'enfant.

### 5.3 Publications et communications

#### Publications nationales

Reynes JM. Taxonomie virale et situation des hantaviroses en France. Bull Acad Vet France 2013,166(2) :149-156.

#### Publications internationales

Macé G, Feyeux C, Mollard N, Chantegret C, Audia S, Rebibou JM, Spagnolo G, Bour JB, Denoyel GA, Sagot P, Reynes JM. Severe Seoul hantavirus infection in a pregnant woman, France, October 2012. Euro Surveill. 2013 Apr 25;18(17):20464.

Macé G, Henaff M, Gobenceaux A, Feyeux C, Sagot P, Reynes JM. Authors reply: Distinguishing between hantavirus-induced haemorrhagic fever with renal syndrome and pregnancy-induced liver pathologies (AFLP and HELLP syndromes). Euro Surveill. 2013 May 30;18(22) pii: 20495.

#### Communications orales internationales

Tersago K, Sedda L, Quoilin S, Reynes JM, Faber M, Reusken C, Wint W, Metz M; Ducheyne E, Leirs H. Predictive model for Hantavirus outbreaks in Western Europe. 5th Symposium of the Belgian Wildlife Disease Society, Tervuren, Belgium, 18 October 2013.

#### Communications affichées internationales

Reynes JM, Razafindralambo NK, Lacoste V, Olive MM, Barivelo TA, Soarimalala VL, Heraud JM, Lavergne A. Anjozorobe virus : a new hantavirus associated to the Thailand virus phylogroup detected in rodents from Madagascar. IX International Conference on HFRS HPS & Hantaviruses. International Society for Hantavirus. Beijing, China : June 5-7 2013.

Tersago K, Sedda L, Quoilin S, Reynes JM, Faber M, Reusken C, Wint W, Alexander N; Ducheyne E, Leirs H. A space-time predictive model for Puumala virus outbreaks in Western Europe. Epidemics – Fourth International conference of infectious disease dynamics, Amsterdam, The Netherlands, 19-22 November 2013.

#### Conférence sur invitations:

Reynes JM ; Taxonomie virale et situation des hantaviroses en France. Séance académique de l'Académie Vétérinaire de France « Approche éco-systémique d'une zoonose : la fièvre hémorragique à syndrome rénal due à l'hantavirus Puumala », Paris, France, 21 février 2013.