

**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
2014**

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 lui 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 des alertes en cas de phénomènes anormaux.

Les résultats marquants de l'année sont les suivants :

- un niveau de détection de cas humains d'infection par le virus Puumala en France métropolitaine en 2014 très légèrement au-dessus de la moyenne annuelle de cas détectés sur la période 2003-2013. La détection de cas à la fin de l'automne laisse présager que l'année 2015 pourrait être épidémique.
- la détection d'un cas dans le Loiret et d'un autre dans l'Isère, deux départements limitrophes de la zone d'endémie où jusqu'à présent aucun cas n'avait été détecté. Cette extension géographique reste cependant très limitée, les communes où ont eu lieu les expositions étaient limitrophes de communes du département voisin où des cas avaient déjà été détectés.
- une déclaration de réactovigilance par le CHU de Nancy auprès de l'ANSM, suite à des discordances répétées de résultats de diagnostic sérologique entre ce CHU et le CNR pour un test de diagnostic rapide (d'autres centres hospitaliers utilisant ce kit étaient également concernés). Le changement de lot du test rapide a confirmé la mise en défaut du lot précédemment utilisé.
- la détection de 3 cas d'infection par le virus Seoul (deux confirmés virologiquement et un sérologiquement). La détection de cas au niveau européen reste très rare. Ces 3 cas ont montré la diversité des circonstances d'exposition au virus Seoul : contact avec des rats bruns sauvages (*Rattus norvegicus*) en milieu urbain et aussi rural et contact avec un rat brun de compagnie
- aucun cas humain d'infection par un hantavirus Maripa diagnostiqué par le laboratoire associé. Quatre cas ont été détectés depuis 2008 dans ce département: trois ont été mortels. Le virus Maripa est un variant de l'hantavirus Rio Mamore décrit en Amérique du Sud.
- l'accréditation par le COFRAC selon la norme ISO 15189 des 3 techniques de diagnostic sérologique (ELISA IgG Hantavirus, ELISA IgM Hantavirus et IF Ig Hantavirus). Elle représente actuellement 80% du volume d'examens de diagnostic effectués par le laboratoire coordonnateur

SOMMAIRE

1	Mission & organisation du CNR.....	4
1.1	Rappel des missions et objectifs majeurs du laboratoire coordonnateur et du laboratoire associé.....	4
2	Activités d’expertise	4
2.1	Evolution des techniques au cours de l’année	4
2.2	Activités d’expertise proprement dites:	5
3	Activités de surveillance	9
3.1	Surveillance de l’évolution et des caractéristiques des infections.....	9
3.2	Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	16
3.3	Participation aux réseaux de surveillance.....	16
3.4	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	17
4	Alertes	19
4.1	Cas d’infection récente par le virus Puumala groupés géographiquement.....	19
4.2	Cas d’infection récente par le virus Puumala hors de la zone d’endémie connue.....	19
4.3	Cas d’infection récente par le virus Seoul	19
5	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l’activité du CNR.....	20
5.1	Recherche d’hantavirus en France métropolitaine chez le hérisson commun (<i>Erinaceus europaeus</i>)	20
5.2	Publications et communications réalisées en lien avec les activités de recherche	21

1 Mission & organisation du CNR

1.1 Rappel des missions et objectifs majeurs du laboratoire coordonnateur et du laboratoire associé

Par arrêté du 26 décembre 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 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

Les techniques de référence, la liste des marqueurs épidémiologiques, les collections de souches, antigènes ou immun-sérums de référence disponibles ainsi que les conditions de stockage, et de mise à disposition de ces collections sont décrites dans l'annexe (§ 9.3).

2.1 Evolution des techniques au cours de l'année

Le laboratoire coordonnateur avait produit en novembre 2013 des lots d'antigènes pour la détection des IgM anti-virus Puumala (PUUV), indisponibles depuis 2007, ainsi que des lots d'antigènes anti-virus Seoul. Ces antigènes utilisés en 2014 ont montré leur valeur *via* les résultats excellents obtenus aux Contrôles de Qualité Externes effectués tout au long de l'année et *via* la détection de nouveaux cas d'infection par le virus Seoul.

Le CNR laboratoire coordonnateur a procédé à la production in vitro d'un ARN transcrit correspondant à la région codante du gène S. Cet ARN, produit en grande quantité, sert en particulier de standard (témoin positif) pour la RT-PCR temps réel PUUV. Il a également produit en grande quantité un ARN transcrit codant pour une partie de la protéine verte fluorescente (EGFP). Cet ARN introduit au moment de la phase de lyse de l'extraction des ARN d'un échantillon permet de valider l'extraction et vérifier l'absence d'inhibiteur de la PCR au cours de sa réalisation. Ces productions ont été effectuées dans le cadre de la préparation du dossier de validation de méthode pour la technique de RT-PCR temps réel permettant la détection du segment S de l'ARN de PUUV (méthode qualitative portée B).

2.2 Activités d'expertise proprement dites:

2.2.1 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 limite 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. En plus du compte-rendu d'examen transmis au laboratoire, les discordances de résultats sont mentionnées par email au laboratoire concerné, dès qu'elles sont observées. Les résultats obtenus par le laboratoire coordonnateur font l'objet d'une vérification par un deuxième essai lorsqu'une discordance est observée.

Ces laboratoires sont au nombre de 13, fin 2014. Dix utilisent un test de diagnostic rapide permettant de détecter des IgM dirigées contre le virus Puumala (et contre les virus Dobrava-Hantaan pour l'un d'entre eux). Quatre 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 laboratoires 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*). Un total de 251 prélèvements a été reçu de ces laboratoires.

Il y a eu concordance de résultats en ELISA des IgG anti-hantavirus pour 66% des prélèvements (113/171 résultats disponibles sur 176) avec un assez bon coefficient de Kappa pondéré (0,48 ; IC 95% : [0,35-0,61]) (*Tableau 2*). La concordance de résultats des IgM anti-hantavirus était de 72,7% (125/172 résultats disponibles sur 176) avec également un assez bon coefficient (0,53 ; IC 95% : [0,38-0,67]) (*Tableau 3*). Il n'y avait pas un laboratoire ou une trousse de réactifs plus particulièrement concerné par ces discordances de résultats.

Sur les 251 prélèvements reçus, 102 avaient été examinés avec les tests rapides. : 99 résultats étaient disponibles. Il y a eu 60% de concordance de résultats avec un coefficient de Kappa pondéré faible (0,35 ; IC 95% : [0,15-0,55]) (*Tableau 4*). Plusieurs laboratoires ont été concernés par des discordances, en particulier le CHU de Besançon et le CHU de Nancy. Ce dernier a eu l'initiative de tester à nouveau les prélèvements ayant des résultats discordants avec un nouveau lot de bandelettes : les résultats positifs des 5

échantillons testés n'ont pas été confirmés. Le CHU de Nancy a procédé en janvier 2015 à une déclaration de réactovigilance auprès de l'ANSM.

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
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
Dijon CHU (21)	Reagentia POC Puumala et Dobrava-Hantaan IgM depuis mi 2014
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

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

Autres Laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	35 (1)	2 (05)	3 (0)	40
Limite	16 (0,5)	1 (1)	2 (0,5)	19
Positif	26 (0)	9 (0,5)	77 (1)	112
Total	77	12	82	171

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

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

Autres Laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	22 (1)	8 (05)	7 (0)	37
Limite	5 (0,5)	6 (1)	8 (0,5)	19
Positif	10 (0)	9 (0,5)	97 (1)	116
Total	37	23	112	172

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Tableau 4 : Résultats obtenus pour la détection des IgM anti-hantavirus (Test rapide versus ELISA)

Autres Laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	13 (1)	7 (05)	3 (0)	23
Limite	4 (0,5)	4 (1)	3 (0,5)	11
Positif	16 (0)	7 (0.5)	42 (1)	65
Total	37	23	48	99

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Cet épisode a souligné l'intérêt de procéder à la confirmation des résultats des diagnostics sérologiques effectués avec des tests commerciaux relativement peu utilisés (faible nombre de demandes en France).

2.2.2 Phylogénie de souches de virus Puumala

Dans le cadre de l'épidémiologie moléculaire, le laboratoire coordonnateur avait obtenu la séquence complète de la partie du segment S codant pour la nucléoprotéine pour 7 souches détectées en 2012 (cf. rapport de l'année d'exercice 2013). Les séquences de 7 autres souches ont été obtenues en 2014. 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).

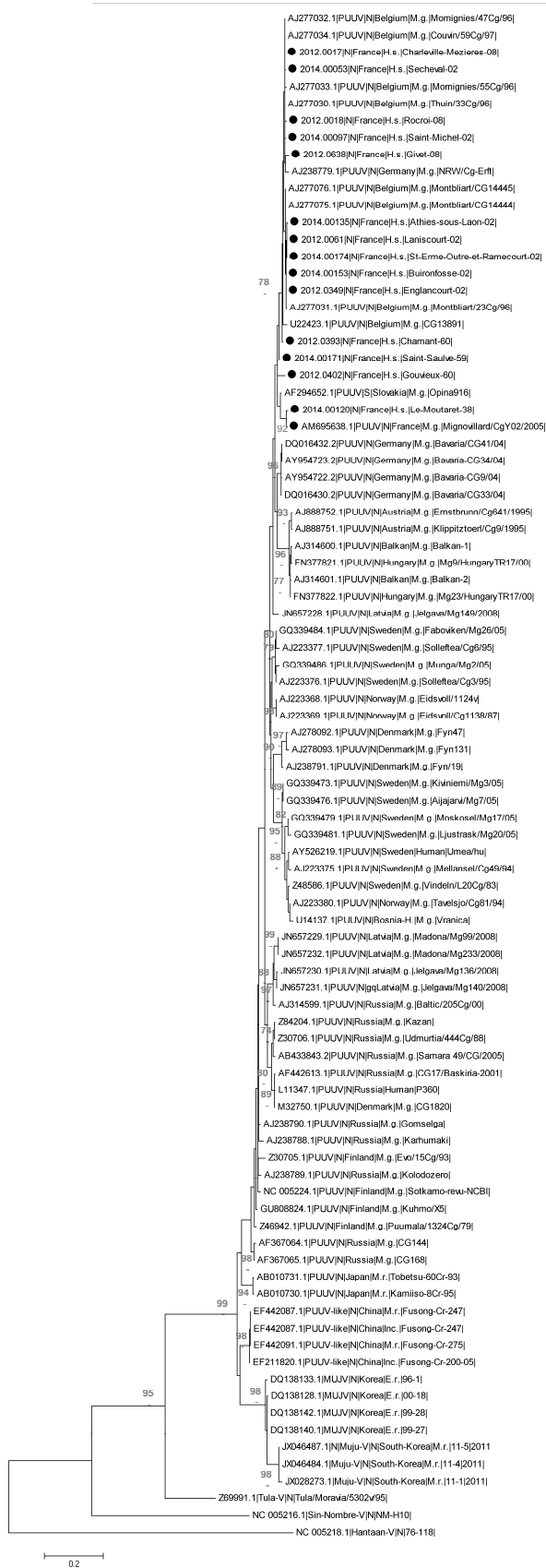
Les séquences des 14 souches détectées sont toutes très proches des souches détectées en Allemagne et en Belgique et s'inscrivent dans le cluster de souches de l'Europe de l'Ouest (*Figure 1*). Ces 14 souches sont issues de 4 foyers d'endémie français : sud de l'Oise, Aisne et Ardennes, et Jura.

Faute de ressources humaines, ce travail n'a pas pu être développé. Un gros travail reste à faire pour optimiser les amorces utilisées pour disposer des séquences. L'utilisation du séquençage de nouvelle génération (NGS) pourrait être une issue, le facteur limitant pouvant être la charge faible dans un prélèvement de sérum ou plasma. Le NGS pourrait donner accès également aux séquences des segments M et L.

2.2.3 Nombre de souches ou échantillons de matériel biologique issus des collections du CNR distribués.

Il n'y a pas eu d'échantillons, ni de souches distribués.

Figure 1 : Arbre phylogénétique de la partie codante du segment S des souches françaises et des souches de virus Puumala représentatives des différents lignées (les valeurs de bootstrap $\geq 70\%$ sont indiquées, les séquences de souches d'origine française sont indiquées par le signe ●)



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 2014, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 357 prélèvements (351 sérums, 3 plasmas, 2 nécropsies de poumon, 1 sang total) provenant de 295 patients (50 ayant eu au moins un 2^{ème} prélèvement). Plus des deux tiers de ces prélèvements (70%) ont été adressés par des laboratoires pour un diagnostic de 2^{ème} intention.

Tous les prélèvements reçus pour un diagnostic de 1^{ère} intention ont une origine hospitalière (*Tableau 5*). Il en est de même pour la plupart de ceux reçus pour un diagnostic de 2^{ème} 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 97% des prélèvements (286/295). Ce très bon pourcentage a été obtenu grâce à de nombreuses relances auprès des prescripteurs (38% des fiches sont seulement reçues en même temps que les prélèvements).

Les prélèvements provenaient de patients résidant en France sauf celui d'un patient résidant et exposé dans son pays d'origine (Roumanie).

Tableau 5 : Origine des prélèvements reçus par le laboratoire coordonnateur

Diagnostic (n = 357)	Origine		Effectif
	Région	Département	
de confirmation = 2 ^{ème} intention (n = 251)	Alsace	CHRU Strasbourg (67)	6
	Bourgogne	CHU Dijon (21)	5
	Champagne- Ardenne	CHU de Reims (51)	16
		CH de Charleville-Mézières (08)	26
	Franche-Comté	CHRU de Besançon (25)	16
	Ile de France	Laboratoire Cerba (95)	108
	Lorraine	CHRU Nancy (54)	11
	Nord Pas de Calais	CHRU de Lille (59)	25
	Picardie	CH de Laon (02)	11
		CH de Saint Quentin (02)	4
		CHU Amiens (80)	6
Rhône-Alpes	Laboratoire Biomnis (69)	15	

Diagnostic (n = 357)	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 1 ^{ère} intention (n = 106)	Alsace	CHRU Strasbourg (67)	1
	Auvergne	CHU Clermont-Ferrand (63)	3
	Basse Normandie	CHU Caen (14)	1
	Bourgogne	CHU Dijon (21)	2
		CH Macon (71)	1
		CH Sens (89)	1
	Champagne-Arde.	CH Charleville-Mézières (08)	5
		CHU Reims (51)	2
	Franche-Comté	CHU Besançon (25)	1
	Ile de France	Hôpital Bichat (75)	7
		Hôpital européen G. Pompidou (75)	2
		Hôpital Necker-Enf. Mal. (75)	1
		Hôpital Pitié Salpêtrière (75)	2
		Hôpital R. Debré (75)	2
		Hôpital Saint-Antoine (75)	3
		Hôpital Saint-Vincent (75)	1
		Hôpital Tenon (75)	6
		HIA Val de Grâce (75)	1
		CH Melun (77)	2
		Hôpital Ambroise Paré (92)	6
		Hôpital Avicenne (93)	4
		CH Versailles (78)	1
		CHU Créteil (94)	3
		Hôpital privé Thiaix (94)	2
	Hôpital Bicêtre (94)	1	
	Languedoc Roussillon	CHU de Nîmes (30)	1
		CHRU Montpellier (34)	5
	Limousin	CHU de Limoges (87)	3
	Lorraine	CHU de Nancy (54)	1
		CH Bar le Duc (55)	3
		CHR de Metz-Thionville (57)	5
		CH Epinal (88)	1
	Midi Pyrénées	CHU de Toulouse (31)	2
	Nord Pas de Calais	CHRU Lille (59)	1
		CH Lens (62)	1
Picardie	CH Laon (02)	1	
	CHU d'Amiens (80)	1	
Poitou-Charentes	CH Niort (79)	1	
	CH Poitiers (86)	1	
Provence Alpes Côte d'Azur	CH du pays d'Aix en Provence (13)	1	
	CH Hyères (83)	2	
Rhône Alpes	CH Bourg en Bresse (01)	9	
	CHU Lyon (69)	2	
	H. Femme Mère Enfant (69)	1	
	CH Chambéry (73)	2	
La Réunion	GH Sud Réunion (974)	1	

- 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, DOBV, 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, 2 671 examens ont été effectués sur les 357 prélèvements reçus (*Tableau 6*).

Tableau 6 : Examens effectués par le labo. coordonnateur dans le cadre de la surveillance

Examens		Effectifs¹
IF Ig	PUUV	350
	SEOV/DOBV	314
	HTNV	36
ELISA IgM	PUUV	350
	SEOV	343
	HTNV	32
	SNV	8
ELISA IgG	PUUV	350
	SEOV	350
	SNV	8
RT-PCR temps réel	PUUV	176
RT-PCR Nichée	Hantavirus Murinae	120
	Hantavirus Arvicolinae	175
	Hantavirus	59
TOTAL		2 671

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).

Sur la base des résultats de ces examens, les 295 cas ont été classés dans les catégories suivantes :

- 68 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).
- 2 cas d'infection récente par le virus Seoul, confirmés virologiquement (détection de l'ARN de SEOV par RT-PCR Nichée ciblant les virus associés aux rongeurs de la sous-famille des Murinae ou ciblant le genre Hantavirus puis identification par analyse de la séquence)
- 35 cas d'infection récente par un hantavirus, confirmés sérologiquement (présence d'IgM et d'IgG anti-hantavirus). Le cas roumain est dans ce groupe. Un de ces cas a une réponse sérologique clairement en faveur d'une infection par le virus Seoul.
- 16 cas possibles d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 8 cas probables d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus uniquement, détectés par ELISA et IF).

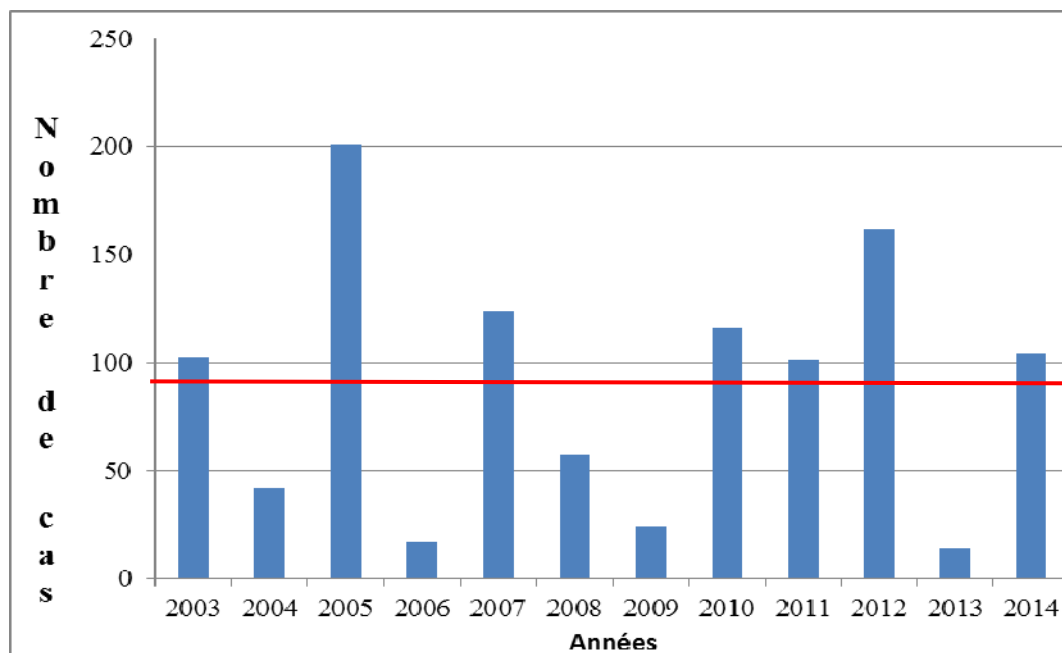
- 14 cas possibles d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus uniquement, détectés seulement par ELISA).
- 86 cas avec absence d'infection ancienne ou récente par un hantavirus (absence d'IgM ou d'IgG anti-hantavirus sur au moins un prélèvement effectué au moins 10 jours après le début de la maladie)
- 66 cas avec un statut indéterminé (n'entrant pas dans les catégories précédentes)

Au final, 105 cas ont été considérés comme des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus [CCIRH] (70 virologiquement et 35 sérologiquement). L'analyse des tendances portera sur 104 cas (le cas roumain étant exclu). Des fiches de renseignements ont été disponibles pour ces 104 cas sauf un.

La médiane d'âge des 104 CCIRH est de 38 ans (de 26 à 73 ans) et le sex-ratio (M/F) de 3,9 (83 hommes et 21 femmes), valeurs conformes à celles observées ces 10 dernières années.

Le nombre de CCIRH détecté en 2014 se trouve légèrement au-dessus de la moyenne de cas détectés au cours des 12 dernières années (*Figure 2*). Sur cette période, nous observons des années dites « épidémiques » tous les deux ans à trois ans. 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 des populations de rongeurs et à la dynamique de circulation du virus dans ces populations qui ne font l'objet d'une surveillance).

Figure 2 : Distribution annuelle des cas confirmés d'infection par un hantavirus en France métropolitaine, 2003-2014 (le trait rouge figure la moyenne sur la période).

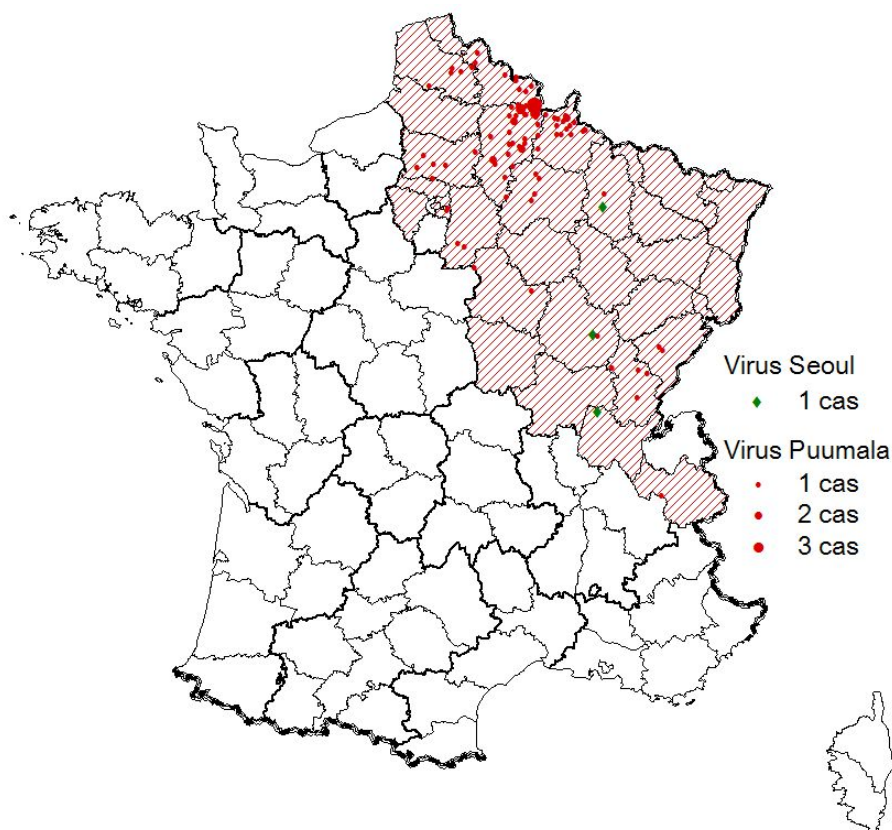


Le pic de détection habituellement retrouvé à la fin du printemps (en juin) est décalé à l'été. Un deuxième pic est observé à la fin de l'hiver. Ce pic hivernal laisse présager une année 2015 épidémique puisque un tel pic a été observé à la fin des années 2009 et 2011 précédant des années « épidémiques » (*Figure 3*).

La distribution géographique selon les départements de 103 des 104 CCIRH résidant en France métropolitaine est présentée sur la *Figure 4* (un cas ayant une exposition avérée en Belgique n'est pas figuré). Les données se fondent d'abord 1/ sur le lieu (code postal) probable d'exposition (n=76), puis s'il n'est pas indiqué 2/ sur le lieu (code postal) de

résidence du patient (n=27), et enfin s'ils ne sont pas indiqués 3/ sur le département d'origine du laboratoire ayant effectué le prélèvement (n=0). Excepté les cas d'infection par SEOV et deux cas d'infection par le virus PUUV (cf. § 3.2 et 4), les autres CCIRH sont situés dans le quart Nord-Est de la France classiquement touché par les infections humaines par PUUV. Parmi les foyers traditionnels d'endémie (Ardennes, Aisne, Nord, Oise et Jura), les 3 premiers ont été les plus touchés (*Figure 4, Tableau 7*).

Figure 4 : Distribution spatiale en France métropolitaine de 103 des 104 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala), détectés en 2014 (en hachuré, les départements où des cas ont été détectés sur la période 2003-2013)

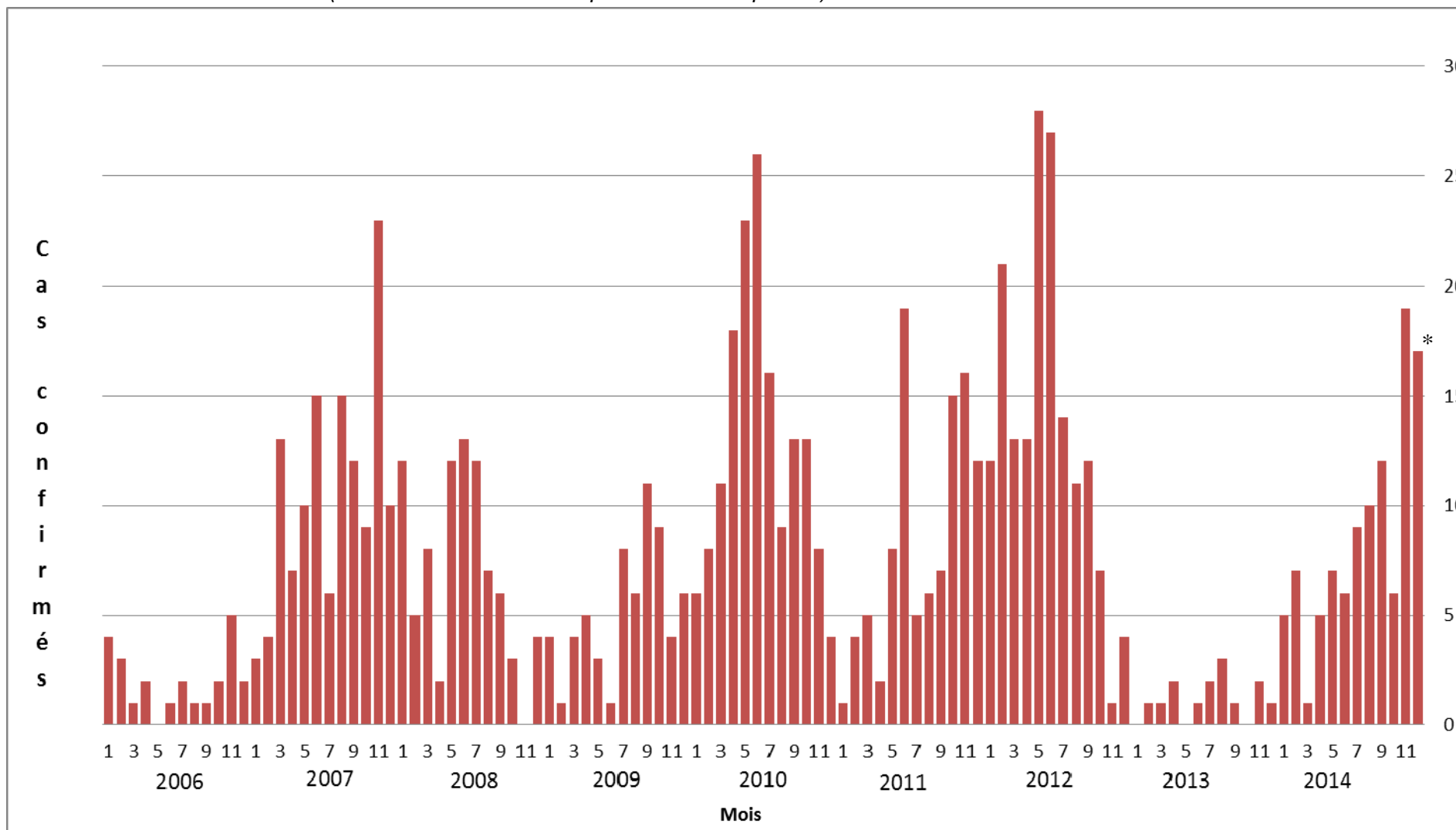


Région Antilles-Guyane (laboratoire associé)

- Réseau de partenaires

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

Figure 3 : Distribution mensuelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine Janvier 2006 – Décembre 2014 (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 7 : Distribution spatio-temporelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus en France métropolitaine Janvier – Décembre 2014 (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)

Région	Département	Population	Année																	
			2012		2013		2014												Total	Incid.†
			Total	Incid.†	Total	Incid.†	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
Nord Pas de Calais	59	2 579 208	7	0,27	1	0,04	1	0	0	1	3	1	3	2	2	1	4	0	18	0,70
	62	1 462 807	1	0,07	1	0,07	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	4	0,27
Picardie	02	541 302	16	2,96	6	1,11	2	2	1	2	2	3	4	1	2	1	5	8	33	6,10
	60	805 642	11	1,37	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1+1	1	6	0,74
Champagne Ardenne	08	283 110	11	3,89	1	0,35	0	2	0	0	0	1	2	4	2	1+3	2	18	6,36	
	10	303 997	6	1,97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	51	566 571	11	1,94	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1+1	0	5	0,88
	52	182 375	4	2,19	1	0,55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ile de France	75	2 249 975	1	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	77	1 338 427	5	0,37	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	3	0,22
	78	1 413 635	2	0,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	93	1 529 928	1	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	94	1 333 702	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0,15
Centre	45	659 587	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0,15
Lorraine	54	733 124	6	0,82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	55	193 557	14	7,23	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1*	0	0	0	2	1,03
	57	1 045 146	3	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	88	378 830	6	1,58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Alsace	67	1 099 269	3	0,27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	68	753 056	1	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bourgogne	21	525 931	8	1,52	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0,38
	58	218 341	2	0,92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	71	555 999	2	0,36	1	0,18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	89	342 463	1	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,29
Franche Comté	25	529 103	6	1,13	1	0,19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0,38
	39	261 294	27	10,30	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	4	1,53
	70	239 695	4	1,67	2	0,83	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	90	143 348	4	2,79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhône-Alpes	01	603 827	1*	0,17	0	0	1*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,17
	38	1 215 212	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,08
Total		23 007 972	164	0,71	14	0,06	5	7	1	5	7	6	9	10	12	6	19	16	103	0,45

† Incid. = Incidence pour 100 000 habitants ; * Cas d'infection récente par le virus Seoul

- Activités

En 2014, le laboratoire associé a reçu 14 échantillons biologiques provenant de 13 patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde (vs 35 en 2013). Tous ces prélèvements ont été reçus pour un diagnostic de première intention, les laboratoires privés ou hospitaliers ne disposant pas d'outils d'investigations (*Tableau 8*). Comme déjà observé en 2012, aucun cas d'infection humaine par un hantavirus n'a été rapporté par le laboratoire au cours de cette année. De même, aucune trace sérologique témoignant d'une infection ancienne par un hantavirus du nouveau Monde n'a été observée pour ces patients.

Tableau 8 : Récapitulatif des demandes de diagnostic d'infection par un hantavirus de 2009 à 2014 (laboratoire associé).

Année	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Echantillons reçus	10	25	21	15	35	14
IgM SNV et/ou RT-PCR positif	1	1	0	0	1	0
IgG SNV	-	-	-	-	-	0

Ces 14 demandes de diagnostic proviennent comme chaque année principalement du Centre Hospitalier de Cayenne (12/14-85,7% des échantillons biologiques) et plus spécifiquement du service de réanimation (*Tableau 9*). Par ailleurs cette année, le laboratoire a reçu 2 demandes de diagnostic en provenance respectivement du Centre Hospitalier de Pointe de Pitre (Guadeloupe) et du Centre Hospitalier de Fort de France (Martinique).

Tableau 9 : Origine des prélèvements adressés au laboratoire associé en 2014

Secteur	Guyane	Martinique	Guadeloupe	Total
Secteur hospitalier	12	1	1	14
Secteur privé	-	-	-	-
Total	12	1	1	14

3.2 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Non applicable.

3.3 Participation aux réseaux de surveillance

Contribution à la surveillance nationale en interface avec l'InVS

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 (cf. 2.2.1).

Le laboratoire coordonnateur a également des échanges réguliers par email ou par téléphone avec l'unité des Infections 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).

Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens

Le CNR des Hantavirus est membre du réseau européen pour le diagnostic des maladies virales d'importation (European Network for diagnostics of Imported viral Diseases, Berlin, Allemagne : <http://www.enivd.org/>). Ce réseau regroupe des laboratoires spécialisés de plus de 30 pays européens. Les objectifs de ce réseau sont de surveiller l'introduction et la circulation de virus en Europe, de définir des conduites à tenir en cas d'importation de ces virus, d'échanger réactifs et matériel biologique et de standardiser les techniques de diagnostic. Le responsable du CNR a participé à la XXIII^{ème} réunion des membres du réseau qui s'est tenue à La Valette (Malte) du 19 au 21 juin 2014. Une session de cette réunion était consacrée aux hantavirus (Epidémiologie des Hantavirus en Pologne, Allemagne, Hollande, et France); chauves-souris réservoirs d'hantavirus en Afrique ; sérodiagnostic), le responsable du CNR ayant présenté les données sur la France.

Le CNR des Hantavirus est en contact régulier avec le programme Emerging and Vector-borne Diseases de l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) à Stockholm en Suède (<http://www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>) via le coordonnateur du Programme Hervé Zeller, ancien responsable du CNR. Les données de surveillance sont transmises annuellement à l'ECDC via l'InVS.

Le laboratoire coordonnateur et le laboratoire associé ont pour partenaire la « Viral Special Pathogens Branch, Centers for Disease Control and Prevention », Atlanta USA (en particulier pour la fourniture de réactifs concernant les hantavirus du Nouveau Monde), via le Dr. Pierre Rollin.

Le CNR des Hantavirus est membre du Réseau International des Instituts Pasteur et collabore avec certains Instituts dans le cadre du diagnostic et de l'épidémiologie des infections par hantavirus (en particulier l'Institut Pasteur de Madagascar et l'institut Pasteur de Dakar et bien sûr l'Institut Pasteur de Guyane, laboratoire associé du CNR).

3.4 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Le CNR a continué à s'intéresser à l'origine géographique et au volume des patients résidant en métropole pour lesquels un diagnostic de 1^{ère} intention a été effectué au sein du réseau de laboratoires partenaires du CNR (CNR compris). Il s'agit de savoir si des cas suspects sont prélevés tout au long de l'année et sur l'ensemble du territoire métropolitain et en quelle proportion. Les données nouvellement obtenues en 2014 portent sur l'année 2013 (il est difficile d'obtenir des partenaires du réseau de surveillance ces données pour l'année qui vient de s'écouler : les données pour l'année 2014 ne sont pas toutes encore reçues et n'ont pu être analysées).

L'année 2013 a été marquée par une plus faible demande de diagnostic. Le pourcentage de cas confirmés a également bien diminué, reflet d'une année 2013 « inter-épidémique ». Les demandes restent les plus abondantes au cours du printemps et de l'été (*Tableau 9, Figure 5*). Le pourcentage de patients prélevés en zone d'endémie reste très élevé (*Tableau 9 ; Figure 6*).

Tableau 9 : Caractéristiques des patients prélevés en France métropolitaine pour un diagnostic d'hantavirose 2011-2013.

Année	Nombre de patients prélevés	Patients prélevés en zone d'endémie	Cas confirmés
2011	1 569	89% (1 399 / 1 569)	6,4% 100 / 1 569
2012	1 872	83% (1 184 / 1 532)*	8,7% 163 / 1 872
2013	1 011	89% (896 / 1009)*	1,4% 14 / 1 011

* le département d'origine n'est pas connu pour 461 cas en 2012 et 2 cas en 2013

Figure 5 : Distribution mensuelle des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus et des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (sur la base de la date de prélèvement), France métropolitaine 2011 – 2013.

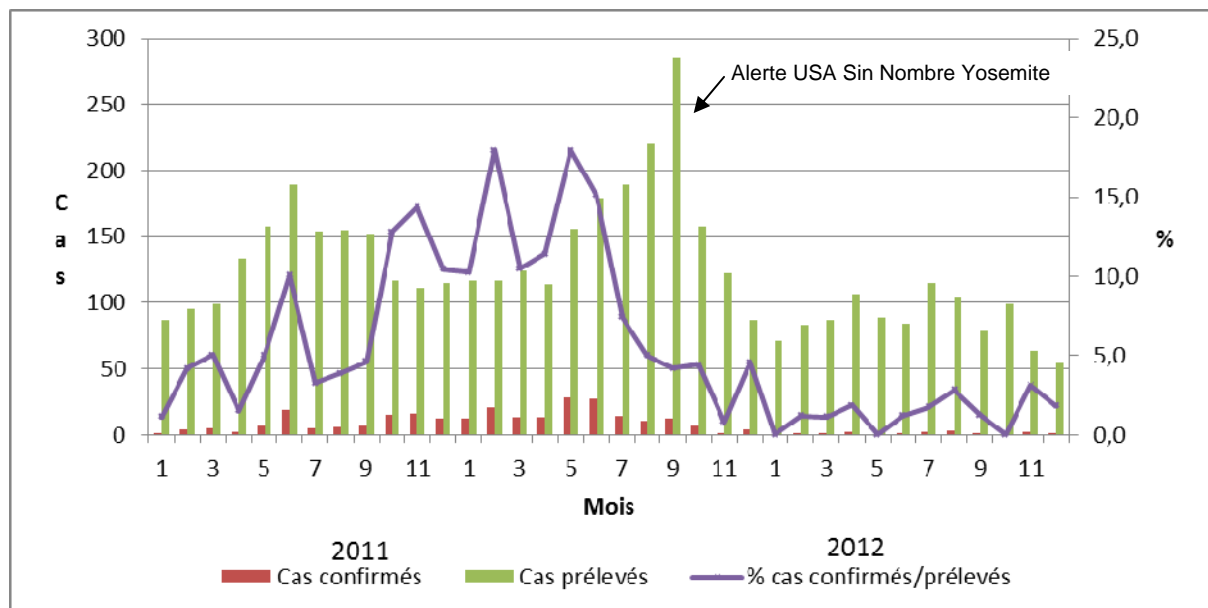
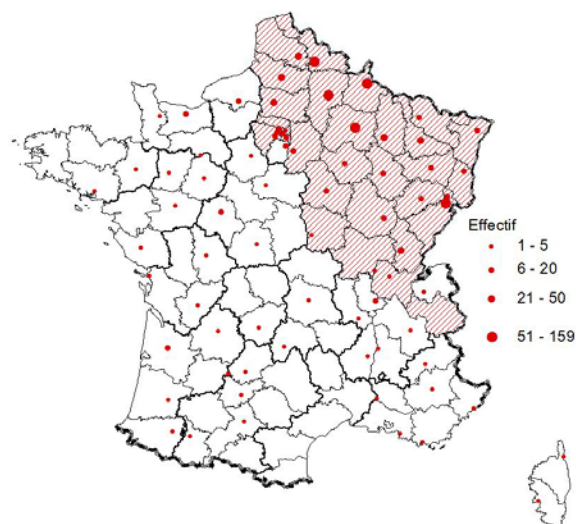


Figure 6 : Distribution spatiale des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus en France métropolitaine (rond rouge par département). La distribution se fonde sur le département du lieu de prélèvement ou sur celui du laboratoire transmetteur si le premier n'est pas connu ; en hachuré, les départements où des cas confirmés d'infection par un hantavirus ont été détectés de 2003 à 2013).



4 Alertes

Au besoin, des alertes sont émises par email auprès de nos interlocuteurs de l'unité des Infections entériques, alimentaires, zoonotiques et à transmission vectorielle du département des maladies infectieuses de l'Institut de Veille Sanitaire. Les réponses apportées par nos interlocuteurs à l'InVS à nos alertes ont toujours été très rapides et constructives.

4.1 Cas d'infection récente par le virus Puumala groupés géographiquement

Trois cas d'infection par le virus Puumala dans la commune de Buironfosse (02), malades en avril, juin et juillet 2014 ont fait l'objet d'un signalement à notre partenaire à l'InVS. Une investigation a été menée par la Cellule de l'InVS en région (CIRE) Nord. L'investigation a permis de montrer qu'il n'y avait pas de source d'exposition commune.

De plus, deux cas groupés n'ont pas fait l'objet d'un signalement (et par conséquent d'investigation). Il s'agit de deux cas confirmés d'infection récente par le virus Puumala qui étaient membres de la même famille avec une même commune d'exposition dans les Ardennes (Sécheval) et la survenue de la maladie à 2 jours d'intervalle au mois de février.

4.2 Cas d'infection récente par le virus Puumala hors de la zone d'endémie connue

Deux cas détectés en dehors de la zone traditionnelle d'endémie ont fait l'objet d'un signalement :

- Un cas survenu en février 2014 dans la commune de Le Moutaret dans l'Isère (38). L'exposition majeure a consisté à la manipulation d'une quarantaine de stères de bois stockées en extérieur. Quelques rares cas d'infection par PUUV ont été détectés ou suspectés dans des départements limitrophes de la zone d'endémie, en particulier au sud, dans les départements de l'Ain (1 cas en 2008), de la Haute-Savoie (1 cas en 1984) et de la Savoie (un cas en 2007). Le cas survenu en Savoie a été détecté chez une personne exposée dans la commune de Villard-Léger, situées à 11 km au nord-est de la commune de Le-Moutaret. Les massifs forestiers de ces communes constituent donc en France les foyers de transmission connus les plus au sud.
- Un cas survenu en août 2014 dans la commune de Bazoches sur le Betz dans le Loiret (45). L'exposition majeure a consisté à des travaux d'entretien d'espaces verts. Cette commune est limitrophe du département de l'Yonne où quelques rares cas (4 pour la période 2003-2013).

Ces extensions restent encore très limitées mais ces cas rappellent qu'un tableau clinique évocateur d'une fièvre hémorragique à syndrome rénal chez un patient exposé en dehors de la zone d'endémie doit conduire à la recherche d'une infection par un hantavirus.

4.3 Cas d'infection récente par le virus Seoul

Les cas confirmés d'infections par le virus Seoul sont très rares en Europe et nous avons rapporté en 2012 le 1^{er} cas confirmé virologiquement (détection du virus chez la personne infectée).

Nous avons confirmé cette année 3 nouveaux cas d'infections par le virus Seoul : deux virologiquement et un sérologiquement.

- Le premier cas (confirmé virologiquement) est un maçon résidant à Dijon dans le département de la Côte d'Or (21), malade en février. L'exposition a eu lieu vraisemblablement pendant son activité professionnelle. Dans les 2 mois qui ont

précédé le début de la maladie, il a travaillé sur plusieurs chantiers de rénovation à Dijon mais également à Véselay dans l'Yonne.

- Le deuxième cas (confirmé sérologiquement) est un éleveur de volailles résidant à Mantenay Montlin dans le département de l'Ain (01), malade en janvier. L'exposition a eu lieu vraisemblablement dans la ferme où les rats étaient présents au cours du curage du réseau d'eaux usées.
- Le troisième cas (confirmé virologiquement) est un résidant de Erize Saint Dizier dans le département de la Meuse (55), malade en septembre. Le patient avait comme animal de compagnie un rat brun (*Rattus norvegicus*) qui a été lui-même trouvé porteur de la souche détectée chez le patient. Cet animal avait été acheté le mois qui précède à une animalerie. Une investigation a été menée par l'InVS en lien avec la CIRE Est, la Direction Générale de l'Alimentation, les directions départementales de la protection des populations de Meurthe et Moselle (54), Meuse (55) et Moselle (57) dans le but d'identifier d'éventuels autres cas humains, d'informer les distributeurs de la vente d'animaux probablement infectés, et de tenter d'identifier l'origine de l'infection pour y remédier. Aucun autre cas n'a pu être identifié et l'investigation a fait apparaître un circuit complexe de distributeurs, le dernier identifié se situant en Hollande et n'étant pas lui-même le producteur des animaux. Les autorités hollandaises ont été informées. Ce cas a fait l'objet d'une communication dans le Flash-Info Maladie Infectieuses de l'InVS (N° 18 – Février 2015) diffusé auprès des infectiologues et réanimateurs hospitaliers.

Ces 3 cas ont montré la diversité des circonstances d'exposition au virus Seoul : contact avec des rats bruns sauvages en milieu urbain et aussi rural et contact avec un rat brun de compagnie.

Il n'y a pas eu d'observation de phénomènes anormaux dans la région Antilles-Guyane.

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 – Jusqu'en 2006, un seul hantavirus était décrit comme associé à ces petits mammifères insectivores (le virus Thottapalayam associé à la musaraigne musquée *Suncus murinus*). Depuis 2006, plus d'une trentaine d'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). 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.

Résultats – Un total de 199 organes (rein, poumon, foie et rate) prélevés sur 50 hérissons de septembre 2013 à mai 2014 en région nantaise ont été testés pour la présence d'ARN d'hantavirus par une RT-PCR nichée pan-hantavirus ciblant une portion du gène L (Klempa B *et al.* Emerg Infect Dis 2006). Les résultats de cette recherche ont été négatifs. Cette recherche sera poursuivie en 2015 sur un nouveau lot de prélèvements.

Il n'y a pas eu d'autres projets de recherche conduits cette année faute de financement, l'équipe étant d'ailleurs concentrée sur les dossiers de validation de méthodes dans le cadre de l'accréditation ISO 15189 par le COFRAC.

5.2 Publications et communications réalisées en lien avec les activités de recherche

Publications nationales

/

Publications internationales

Reynes JM, Razafindralambo NK, Lacoste V, Olive MM, Barivelo TA, Soarimalala V, Heraud JM, Lavergne A. Anjzorobe hantavirus, a new genetic variant of Thailand virus detected in rodents from Madagascar. Vector Borne Zoonotic Dis. 2014 Mar;14(3):212-9.

de Thoisy B, Matheus S, Catzeflis F, Clément L, Barrioz S, Guidez A, Donato D, Cornu JF, Brunaux O, Guitet S, Lacoste V, Lavergne A. Maripa hantavirus in French Guiana: phylogenetic position and predicted spatial distribution of rodent hosts. Am J Trop Med Hyg. 2014 Jun;90(6):988-92.

Communications orales nationales

/

Communications orales internationales

Reynes JM. Hantavirus Surveillance in France. 23rd Meeting of the European Network for Diagnostic of "Imported" viral diseases (ENIVD). Valetta, Malta, June 19 – 21 2014.

Tersago K, Sedda L, Wint W, Quoilin S, Reynes JM, Faber M, Reusken C, Alexander N, Metz M, Ducheyne E, Leirs H. State-space models, risk maps and Public Health: one health approach to hantavirus infections. Session One Health: from research to public health. International meeting on Emerging diseases and surveillance. Vienna, Austria, October 31 – November 2014.

Communications affichées nationales

/

Communications affichées internationales

/

Conférence sur invitations:

Reynes JM. Hantavirus surveillance in France and other geographical regions. Institut de Virologie, Charité – Université de Médecine. Berlin, Germany, June 5 2014.

NB : seules sont citées les publications et communications réalisées (les prévues ou en cours ne font pas l'objet de citation).