

**Centre National de Référence
des HANTAVIRUS**

Laboratoire Coordonnateur

**Institut Pasteur
Unité Environnement et risques
infectieux**

**25-28 rue du docteur Roux
75724 Paris Cedex 15**

**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 :
Anne LAVERGNE**

**Année d'exercice
2019**

Remerciements

Nous remercions pour leur précieuse collaboration permettant en particulier l'activité d'expertise et de surveillance tout au long de l'année:

- l'unité des infections vectorielles, zoonotiques, et alimentaires, de la direction des Maladies Infectieuses de l'agence nationale de santé publique
- nos correspondants du réseau de laboratoires effectuant en première intention le diagnostic sérologique d'une infection par un hantavirus,

Résumé analytique

Le CNR des Hantavirus a été attribué pour la période allant du 1^{er} avril 2017 au 31 mars 2022 à l'Institut Pasteur (laboratoire coordonnateur) et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé). Le CNR a pour mission de développer une expertise sur les hantavirus du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde, d'apporter conseils en la matière, 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 :

- Une année modérément épidémique en France métropolitaine avec la détection de 126 cas humains d'infection récente par un hantavirus au-delà de la moyenne annuelle de cas détectés sur la période 2012-2018 (n=110). Le pic de détection au printemps est conforme à celui attendu, la médiane d'âge également (40,0 ans). Le sexe-ratio est par contre le double de celui attendu (5,1). Les foyers traditionnels d'endémie du virus Puumala ont été actifs.
- Une légère extension de la zone traditionnelle d'endémie avec la détection de deux cas d'infection par le virus Puumala dans des départements limitrophes: 1 dans l'est de l'Eure et un dans le nord de l'Allier.
- Les premières détections du virus Dobrava-Belgrade chez deux cas d'importation du centre de l'Europe ou de la région des Balkans
- Aucun cas humain d'infection par l'hantavirus Maripa diagnostiqué par le laboratoire associé (Institut Pasteur de Guyane) en 2019. Depuis 2008, 6 cas d'infection par le virus Maripa ont été détectés en Guyane dont 4 mortels.
- Obtention, par le laboratoire associé, de l'accréditation ISO 15189 pour la technique de détection moléculaire de l'hantavirus Maripa.

Executive summary

The Hantavirus NRC has been endorsed for the April 2017 to March 2022 period by the Emerging Viral Infections Biology unit of the Institut Pasteur, based in Lyon (coordinator laboratory) and by the Virology laboratory of the Institut Pasteur of French Guiana, based in Cayenne (associated laboratory). The NRC has four missions regarding hantaviruses from the Old and the New Worlds: expertise, advices, surveillance and alert.

The highlights of the year are the followings:

- a slightly epidemic period in metropolitan France, with the detection of 126 hantavirus cases, over the annual average of cases detected during the 2012-2018 period (n=110). The pic of detection was in spring, as expected. Median age (40.0 years) was consistent with the median observed for the last 10 years whereas the sex-ratio (5.1) was the double than the one expected. The main traditional endemic areas were active.
- A moderate extension of the traditional Puumala virus endemic area with the detection of cases in neighbouring departments: one case in the East of Eure and one in the North of Allier.
- the first detection of Dobrava-Belgrade virus in two imported cases from Central Europe and the Balkans region.
- no human case of Maripa hantavirus infection diagnosed in French Guiana. Since 2008, 6 cases of Maripa virus infection have been detected including 4 deaths.
- ISO 15189 accreditation obtained by the associated laboratory for the molecular detection of the Maripa virus.

SOMMAIRE

1	Missions du CNR	6
1.1	Apporter une expertise :	6
1.2	Apporter un conseil :	6
1.3	Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique :	6
1.4	Contribuer à l'alerte :	6
2	Activités d'expertise.....	7
2.1	Evolution des techniques au cours de l'année	7
2.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	7
2.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	7
2.4	Collections de matériel biologique	7
2.5	Activités d'expertise proprement dites	7
2.6	Activités de séquençage :	10
3	Activités de surveillance	11
3.1	Description du réseau de partenaires	11
3.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	13
3.3	Surveillance de la résistance aux anti-infectieux.....	19
3.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	19
3.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	21
4	Alertes	23
4.1	Détection de 2 cas importés d'infection par le virus Dobrava-Belgrade.....	23
4.2	Extension de la zone traditionnelle d'endémie du virus Puumala.....	24
5	Activités de rétro-information, de formation et de conseil	24
5.1	Conseil et expertise aux professionnels de santé.....	24
5.2	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	25
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public, etc.)	25
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR.....	26
6.1	PHRC-N HANTADIAG (labo. coordonnateur).....	26
6.2	Syndrome de fuite capillaire associé à la sévérité du syndrome pulmonaire à hantavirus provoqué par le virus Maripa.....	27
6.3	Publications et communications en lien avec les missions et activités du CNR	27
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux	28

1 Missions du CNR

Les nouvelles missions sont définies dans l'appel à candidature de l'agence nationale de santé publique (Santé Publique France) le 19 juin 2016 et confiées, pour la période allant du 1^{er} avril 2017 au 31 mars 2022, à l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes (UBIVE) de l'Institut Pasteur à Lyon par arrêté du 7 mars 2017 puis à l'Unité Environnement et Risques Infectieux de l'Institut Pasteur à Paris par arrêté du 12 décembre 2019 (laboratoire coordonnateur) et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé ou CNR Hantavirus-LA). Ces missions sont :

1.1 Apporter une expertise :

- en participant au développement, à l'évaluation et à la diffusion 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) ;
- aux laboratoires de biologie de ville et hospitaliers pour le diagnostic des hantaviroses (confirmation de diagnostic, identification de virus, séquençage) ;
- en développant des collaborations avec des laboratoires étrangers, notamment au niveau européen.

1.2 Apporter un conseil :

- aux professionnels de santé ;
- auprès de l'agence nationale de santé Publique, des autres agences de sécurité sanitaire, de la Haute Autorité de Santé (HAS) et du ministère chargé de la santé ;
- en participant à l'élaboration de mesures de prévention et de contrôle des hantaviroses ;
- en répondant aux demandes d'expertise ou à des enquêtes.

1.3 Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique :

- 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.

1.4 Contribuer à l'alerte :

- en signalant à l'agence nationale de santé publique 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, identification d'une exposition particulière (NAC, etc.), 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 SpF, à la Cellule de SpF 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 Evolution des techniques au cours de l'année

Le laboratoire coordonnateur a reconduit sur le nouveau site parisien les techniques de diagnostic accréditées : ELISA IgG et IgM Hantavirus, IF Ig Hantavirus et RT-PCR temps réel virus Puumala segment S, RT-PCR nichée « Arvicolinae » segment S et RT-PCR nichée « Hantavirus ». Ces techniques ont été opérationnelles dès le mois de janvier 2019 avec une accréditation ISO 15189 renouvelée pour le nouveau site suite à l'audit COFRAC du 15 et 16 avril 2019.

Le laboratoire coordonnateur a également standardisé une technique de titrage d'hantavirus en plaque sur cellules Vero E6. Cette technique a été appliquée à la validation de nos procédés d'inactivation et de décontamination utilisés pour les hantavirus.

Le laboratoire a reconduit les techniques mises en place : (i) RT-PCR temps réel spécifique du variant Maripa utilisée en première intention pour la recherche de génome viral (*Matheus S et al. 2018*) (technique accréditée). (ii) RT-PCR nichée conventionnelle réalisée avec des amorces consensus du segment S des hantavirus du Nouveau Monde (*Johnson AM et al. Virology 1997*) réservée en cas de détection d'IgM anti-hantavirus et de RT-PCR temps réel négative pouvant être le reflet d'une infection par un autre hantavirus que le variant Maripa (iii) technique de sérologie pour la recherche IgM et IgG des hantavirus du Nouveau Monde.

Le laboratoire associé a également testé en 2019 une technique de sérologie IgG Ancien Monde (Euroimmun Pool 1 Eurasia IgG et IgM) dans le cadre d'une enquête de séroprévalence.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Le projet hospitalier de recherche clinique national HANTADIAG visant à évaluer entre autres des trousse commerciales sérologiques est toujours en cours (cf. § 6.1)

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Aucune demande de transfert de technique n'a été exprimée auprès du CNR par des laboratoires extérieurs.

2.4 Collections de matériel biologique

Le laboratoire coordonnateur a acquis auprès de BEI Ressources (Manassas USA) un anticorps polyclonal de lapin dirigé contre la nucléoprotéine du virus Puumala.

Le laboratoire coordonnateur a transféré au laboratoire des arbovirus, des fièvres hémorragiques virales, virus émergents et zoonoses de l'Institut Pasteur de Bangui un ARN témoin positif (transcrit quantifié du segment L virus Puumala) pour la technique de détection moléculaire RT-PCR nichée « Hantavirus » segment L afin de pouvoir évaluer la limite de détection de la technique mise en place dans ce laboratoire.

2.5 Activités d'expertise proprement dites

2.5.1 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 de 38 à 110 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'examens transmis au laboratoire, les discordances notables de résultats sont aussitôt mentionnées par email au laboratoire concerné. Les résultats obtenus par le laboratoire coordonnateur font l'objet d'une vérification par un deuxième essai lorsqu'une discordance est observée. Il reste important de procéder à cette confirmation des résultats des examens sérologiques effectués avec des tests commerciaux relativement peu utilisés (en particulier en France).

Ces laboratoires sont au nombre de 16, fin 2019. Douze utilisent un test de diagnostic rapide permettant de détecter des IgM dirigées contre le virus Puumala (et contre les virus Dobrava-Belgrade et-Hantaan pour l'un d'entre eux). Trois utilisent un test ELISA, deux permettant de détecter les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien Monde et un autre, les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien Monde et du Nouveau Monde (le CH de Charleville-Mézières utilise également le test rapide). Enfin un dernier laboratoire utilise un test IF permettant de détecter les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien Monde et du Nouveau Monde. Ces laboratoires se trouvent pour la plupart dans la zone d'endémie des cas humains d'infection par le virus Puumala (Tableau 1).

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
Bordeaux CHU (33)	Reagentia POC Puumala IgM
Cerba (95)	Euroimmun Pool 1 Eurasia ELISA IgG et IgM
Charleville-Mézières CH (08)	Reagentia Reascan Puumala IgM et Focus Hantavirus ELISA IgG et IgM
Compiègne-Noyon CH (60)	Reagentia POC Puumala IgM
Dijon CHU (21)	Reagentia POC Puumala et Reascan Dobrava-Hantaan IgM
Dole CH (39)	Reagentia POC Puumala IgM
Eurofins Biomnis (69)	Euroimmun Mosaic 1 IF IgM et IgG
Laon CH (02)	Reagentia POC Puumala IgM
Lille CHRU (59)	Euroimmun Pool 1 Eurasia ELISA IgG et IgM
Nancy CHRU (54)	Reagentia Reascan Puumala IgM
Reims CHU (51)	Reagentia POC Puumala IgM
Saint-Claude CH (39)	Reagentia Reascan Puumala IgM
Saint-Quentin CH (02)	Reagentia POC Puumala IgM
Strasbourg CHRU (67)	Reagentia POC Puumala IgM

Un total de 230 prélèvements a été reçu de ces laboratoires. La répartition par laboratoire est indiquée au § 3.1.

ELISA IgG anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 66,0% pour les 159 prélèvements testés par les laboratoires utilisant les trousse commerciales ELISA ou IF et dont les résultats étaient disponibles (5 résultats indisponibles, 8 non testés), avec un accord modéré entre les techniques commerciales et celles du CNR (coefficient de Kappa: 0,45 ; IC 95% : [0,20-0,71]). 21% des prélèvements (n = 33) avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 2).

L'analyse de ces discordances montre que pour 14 d'entre elles (42%), il s'agit d'un défaut de sensibilité de la technique du CNR utilisant des antigènes natifs alors que les kits commerciaux utilisent seulement la protéine N recombinante qui, en excès, permet de détecter plus précocement les IgG qui sont dirigées en début d'infection majoritairement contre cette protéine. Par contre l'emploi des antigènes natifs permet de mieux détecter les IgG sur des sérums prélevés des mois après le début de la maladie. Ce défaut de sensibilité dans le diagnostic sur les sérums précoces est compensé au CNR par l'emploi de la détection moléculaire. Un défaut de spécificité des techniques mises en œuvre dans le réseau de laboratoire est mis en évidence pour 7 discordances. L'analyse des 12 autres discordances ne met pas plus en lumière le défaut d'une technique par rapport à une autre.

Tableau 2 : Résultats de la détection des IgG anti-hantavirus (technique ELISA et IF).

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	31 (1)	1 (0,5)	0 (0)	32
Limite	3 (0,5)	0 (1)	2 (0,5)	5
Positif	33 (0)	15 (0,5)	74 (1)	122
Total	67	16	76	159

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

ELISA IgM anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 79% pour les 159 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales ELISA et dont les résultats étaient disponibles (5 résultats indisponibles, 8 non testés), avec un accord modéré entre les techniques commerciales et celles du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,45 ; IC 95% : [0,20-0,71]). 13% des prélèvements (n = 21) avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 3).

L'analyse de ces discordances met en évidence pour les techniques commerciales mises en œuvre dans le réseau de laboratoire un défaut de spécificité pour 10 cas et un défaut de sensibilité pour 5 cas (impossible de conclure pour les 6 autres).

Tableau 3 : Résultats de la détection des IgM anti-hantavirus (technique ELISA et IF).

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	22 (1)	1 (0,5)	6 (0)	29
Limite	1 (0,5)	3 (1)	5 (0,5)	9
Positif	15 (0)	5 (0,5)	101 (1)	121
Total	38	9	112	159

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Test rapide PUUV IgM

La concordance de résultats était de 83% pour les résultats disponibles pour 72 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales et dont les résultats étaient disponibles (3 résultats indisponibles, 12 non testés car suspicion d'une infection par un hantavirus différent du virus Puumala ou prélèvement trop tardif par rapport au début de maladie), avec un accord modéré entre la technique commerciale et celles du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,59 ; IC 95% : [0,34-0,84]). Six prélèvements avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 4).

L'analyse de ces discordances suggère pour un cas un défaut de spécificité de la technique ELISA du CNR et pour 3 autres un défaut de sensibilité du test rapide mis en œuvre dans le réseau de laboratoire (pas possible de conclure pour les 2 autres).

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

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	7 (1)	3 (0,5)	5 (0)	15
Limite	0 (0,5)	1 (1)	2 (0,5)	3
Positif	1 (0)	1 (0,5)	52 (1)	54
Total	8	5	59	72

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

2.6 Activités de séquençage :

Nous n'avons pas effectué cette année de caractérisation moléculaire par technique classique de séquençage type Sanger des souches circulantes. En effet, l'équipe a été mobilisée dans la première partie de l'année par les activités permettant de renouveler notre accréditation par le COFRAC. Au cours du second trimestre, les activités techniques ont été assurées a minima (diagnostic seulement) par les techniciens suppléants (la technicienne titulaire étant enceinte et n'étant plus autorisée à manipuler jusqu'à son congé de maternité en décembre). Néanmoins, les résultats acquis les années précédentes ont fait l'objet d'une publication (cf. § 6.4)

Un essai de séquençage génomique par « next-generation sequencing » (NGS) a été effectué sur une souche de virus Dobrava détectée chez un patient. L'amplification du génome a été effectuée par « Whole Transcriptome Amplification » (WTA). L'essai n'a pas été concluant puisqu'il n'a pas été possible de retrouver la séquence d'une souche Dobrava parmi les reads disponibles. Ce n'est pas surprenant dans le contexte d'hantavirus détecté chez les humains puisque les charges virales sont très faibles dans les échantillons sanguins. Une amplification par technique d'enrichissement permettrait d'avoir de meilleurs résultats pour ces charges virales très faibles (No JS et al. Science Report 2019).

Pour cette activité, le laboratoire coordonnateur bénéficie de l'aide et l'expertise du Pôle de Génotypage des Pathogènes (PGP) dirigé par Valérie Caro, au sein de l'unité ERI.

Le CNR Hantavirus-LA ne disposant pas, à l'heure actuelle, des autorisations de détention et de mise en œuvre du virus *Laguna Negra* (variant Maripa), il n'est plus en mesure d'effectuer des activités de séquençage ou bien encore des tentatives d'isolement. Ces demandes devront être déposées ultérieurement.

3 Activités de surveillance

- Une année modérément épidémique en France métropolitaine avec un niveau de détection de 126 cas humains d'infection récente par un hantavirus (essentiellement le virus Puumala) au-delà de la moyenne annuelle de cas détectés sur la période 2012-2018 (n=110). Le pic de détection au printemps est conforme à celui attendu, la médiane d'âge également. Le sexe-ratio est par contre le double de celui attendu (5,1). Les foyers traditionnels d'endémie du virus Puumala ont été actifs.
- Une légère extension de la zone traditionnelle d'endémie avec la détection de deux cas d'infection par le virus Puumala dans des départements limitrophes: 1 dans l'est de l'Eure et un dans le nord de l'Allier
- Les premières détections du virus Dobrava-Belgrade chez deux cas d'importation du centre de l'Europe ou de la région des Balkans.
- Aucun cas humain d'infection par un hantavirus Maripa n'a été diagnostiqué.

3.1 Description du réseau de partenaires

France Métropolitaine (laboratoire coordonnateur)

- Réseau de partenaires :

Le laboratoire coordonnateur reçoit des prélèvements pour un diagnostic de première intention et surtout pour un diagnostic de deuxième intention. Ces derniers sont expédiés par les laboratoires partenaires effectuant un diagnostic de première intention (cf. 2.5.1).

- Prélèvements réceptionnés :

Le laboratoire coordonnateur a reçu en 2019, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 386 échantillons (382 sérums ou plasmas, 2 urines, 1 ARN extrait de sang, 1 biopsie rénale) provenant de 320 patients (55 ayant eu au moins un 2^{ème} prélèvement). Près des 2/3 de ces prélèvements (59,6%) ont été adressés par des laboratoires pour un diagnostic de 2^{ème} intention (Tableau 5).

Tableau 5 : Origine des prélèvements reçus par le laboratoire coordonnateur.

Diagnostic	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 2 ^{ème} intention = confirmation (n = 230)	Auv - Rhône-Alpes	Laboratoire Eurofins Biomnis (69)	44
	Bourgogne – Franche-Comté	CHU Dijon (21)	10
		CHRU de Besançon (25)	11
		CH Dole (39)	3
		CH Saint6Claude (39)	3
	Grand-Est	CH de Charleville-Mézières (08)	29
		CHU de Reims (51)	7
		CHRU Nancy (54)	2
		CHRU Strasbourg (67)	7
	Hauts-de-France	CH de Laon (02)	12
		CH de Saint Quentin (02)	1
		CHRU de Lille (59)	21
		CHIC Compiègne-Noyon (60)	2
		CHU Amiens (80)	0
Ile-de-France	Laboratoire Cerba (95)	78	
Nouvelle Aquitaine	CHU Bordeaux (33)	0	

Diagnostic	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 1 ^{ère} intention (n = 156)	Auvergne – Rhône-Alpes	CH Moulins (03)	1
		CH Valence (26)	2
		CH Bourgoin-Jallieu (38)	1
		CHU Grenoble (38)	1
		CHU Clermont-Ferrand (63)	1
		CHU Lyon (69)	9
		LABM Anse (69)	1
		CH Chambéry (73)	1
	Bourgogne – Franche-Comté	CHU Dijon (21)	1
		CH Nevers (58)	1
		CH Chalon-sur-Saône (71)	1
		CH Belfort-Montbéliard (90)	2
	Bretagne	CHU Rennes (35)	1
	Centre – Val de Loire	CHR Orléans (45)	7
	Grand-Est	Hôpital de Mercy – Metz (57)	14
		CH Haguenau (67)	1
		Hôpitaux civils de Colmar (68)	5
	Hauts-de-France	CH Valenciennes(59)	1
		CH Beauvais (60)	3
	Ile-de-France	Hôpital Bichat (75)	16
		Hôpital Lariboisière (75)	1
		Hôpital Necker-Enfants malades (75)	7
		Hôpital Pitié Salpêtrière (75)	1
		Hôpital Saint Antoine (75)	5
		Hôpital Saint-Louis (75)	1
		Hôpital Tenon (75)	18
		Institut Pasteur (75)	2
		CH Melun (77)	13
		CH Sud Francilien – Corbeil (91)	1
		Hôpital Beaujon – Clichy (92)	4
		Hôpital Ambroise Paré (92)	2
		Hôpital Raymond Poincaré – Garches (92)	5
		Hôpital L. Mourier – Colombes (92)	1
		Hôpital Bicêtre – Le Kremlin B. (94)	1
		CHU Créteil (94)	9
	CHIC Créteil (94)	2	
	Nouvelle Aquitaine	CH Dax (40)	3
		CH Niort (79)	1
		CHU Poitiers (86)	1
		CH Avranches – Granville (50)	1
		CHU Rouen (76)	1
Occitanie	CH Perpignan (66)	1	
Provence – Alpes – Côte d’Azur	CHU Nice (06)	3	
	CHU Marseille	1	
	CHIC Toulon - La Seyne sur Mer (83)	1	

Région Antilles-Guyane (laboratoire associé)

- Réseau de partenaires :

Depuis l'identification en 2008 du premier cas humain d'infection autochtone par un hantavirus du Nouveau Monde, le virus Maripa, le CNR Hantavirus-LA a développé des outils

sérologiques et moléculaires spécifiques aux hantavirus du Nouveau Monde. Il est le seul laboratoire dans le département à réaliser ce diagnostic de 1ère intention, les laboratoires privés ou hospitaliers ne disposant pas d'outils d'investigations moléculaires et/ou sérologiques (des trousse de diagnostic sérologique existent mais les différents laboratoires en Guyane ne les ont pas mises en place). Les médecins hospitaliers sont sensibilisés aux aspects cliniques et épidémiologiques liés à l'infection par ce virus émergeant en Guyane. Ils sont aussi informés des capacités techniques disponibles au laboratoire pour répondre à toute demande de diagnostic (sérologique et/ou moléculaire).

- Prélèvements réceptionnés :

En 2019, le laboratoire associé a reçu 24 échantillons biologiques provenant de 22 patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde. Le nombre de demandes de diagnostic hantavirus reste faible.

La majorité des demandes de diagnostic provenaient du Centre Hospitalier de Cayenne : 39.13% (9/23) du service de réanimation, 47.82% (11/23) du service des maladies infectieuses, 13.04% (3/23) du service des urgences (Tableau 6). Une demande de diagnostic provenait du Centre Médical Interarmées de Cayenne.

Tableau 6 : Origine des prélèvements adressés au laboratoire associé en 2018.

Origine	Guyane	Martinique	Guadeloupe	Total
Secteur hospitalier	23	0	0	23
Centre de santé	0	0	0	0
Secteur privé	1	0	0	1
Total	24	0	0	24

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

France Métropolitaine (laboratoire coordonnateur)

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), Thailand (THAIV) et IgG anti-PUUV SNV + IF Ig anti-SEOV, THAIV 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, 2466 examens ont été effectués sur les 381 prélèvements testés (Tableau 7).

Sur la base des résultats de ces examens, les 320 cas suspects ont été classés dans les catégories suivantes :

- **107 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 Dobrava-Belgrade (DOBV), confirmé virologiquement (détection de l'ARN de SEOV par RT-PCR nichée ciblant le la famille *Hantaviridae* puis identification par analyse de la séquence)**
- **26 cas d'infection récente par un hantavirus, confirmés sérologiquement (présence d'IgM et d'IgG anti-hantavirus).**

- 6 cas probables d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA et IF)
- 10 cas possibles d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 5 cas d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus uniquement, détectés par ELISA et IF).
- 1 cas possible d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 92 cas avec absence d'infection ancienne ou récente par un hantavirus (absence d'IgM et d'IgG anti-hantavirus sur au moins un prélèvement effectué au moins 10 jours après le début de la maladie)
- 71 cas avec un statut indéterminé (n'entrant pas dans les catégories précédentes)

NB : un des 2 cas d'infection par le virus Dobrava-Belgrade est un des cas d'infection récente par un hantavirus détecté en 2018 et qui était en 2019 en cours d'investigation (recherche d'échantillons plus précoce que celui disponible pour identifier le virus responsable de cette infection) : cf. rapport annuel activités 2018.

Tableau 7 : Examens effectués par le labo. coordonnateur dans le cadre de la surveillance.

Examens		Effectifs ¹
Technique	Antigène ou virus ²	
IF Ig	PUUV	381
	SEOV ou THAIV	381
ELISA IgM	PUUV	381
	THAIV	381
ELISA IgG	PUUV	381
RT-PCR temps réel	PUUV	249
RT-PCR nichée	Hantavirus Arvicolinae	156
	Hantavirus	156
TOTAL		2 466

¹ Tous les examens n'ont pas été effectués sur les 274 prélèvements reçus (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 Nous n'avons pas pu disposer en 2019 de tous les virus et antigènes puisqu'il nous a fallu demander et obtenir des autorisations de détention et de mise en œuvre de MOT matériel génétique et micro-organismes délivrées par l'ANSM pour le nouveau site parisien.

Au final, 135 cas ont été considérés comme des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus [CCIRH] (109 virologiquement et 26 sérologiquement).

Les 2 cas d'infection par DOBV sont vraisemblablement des cas d'importation en provenance de pays du sud-est de l'Europe, détectés en 2019 mais survenu en 2018 pour l'un (résidant en France). Un cas d'infection par PUUV est d'origine allemande, deux autres de Belgique. Un cas d'infection récente par un hantavirus (non identifié) est originaire de Slovaquie. Ces 4 cas ont été très probablement infectés dans leur pays d'origine. Trois résidents français ont été contaminés en Slovénie (PUUV), Allemagne (PUUV) ou Serbie (hantavirus non identifié). Ils sont tous exclus du reste de l'analyse.

La médiane d'âge des 126 autres CCIRH est de 40,0 ans (de 12 à 67 ans) et est conforme à celles observées ces 6 dernières années (Tableau 8). Le sexe-ratio (M/F) de 5,1 (104 hommes et 22 femmes) est le plus élevé sur cette période (Tableau 8).

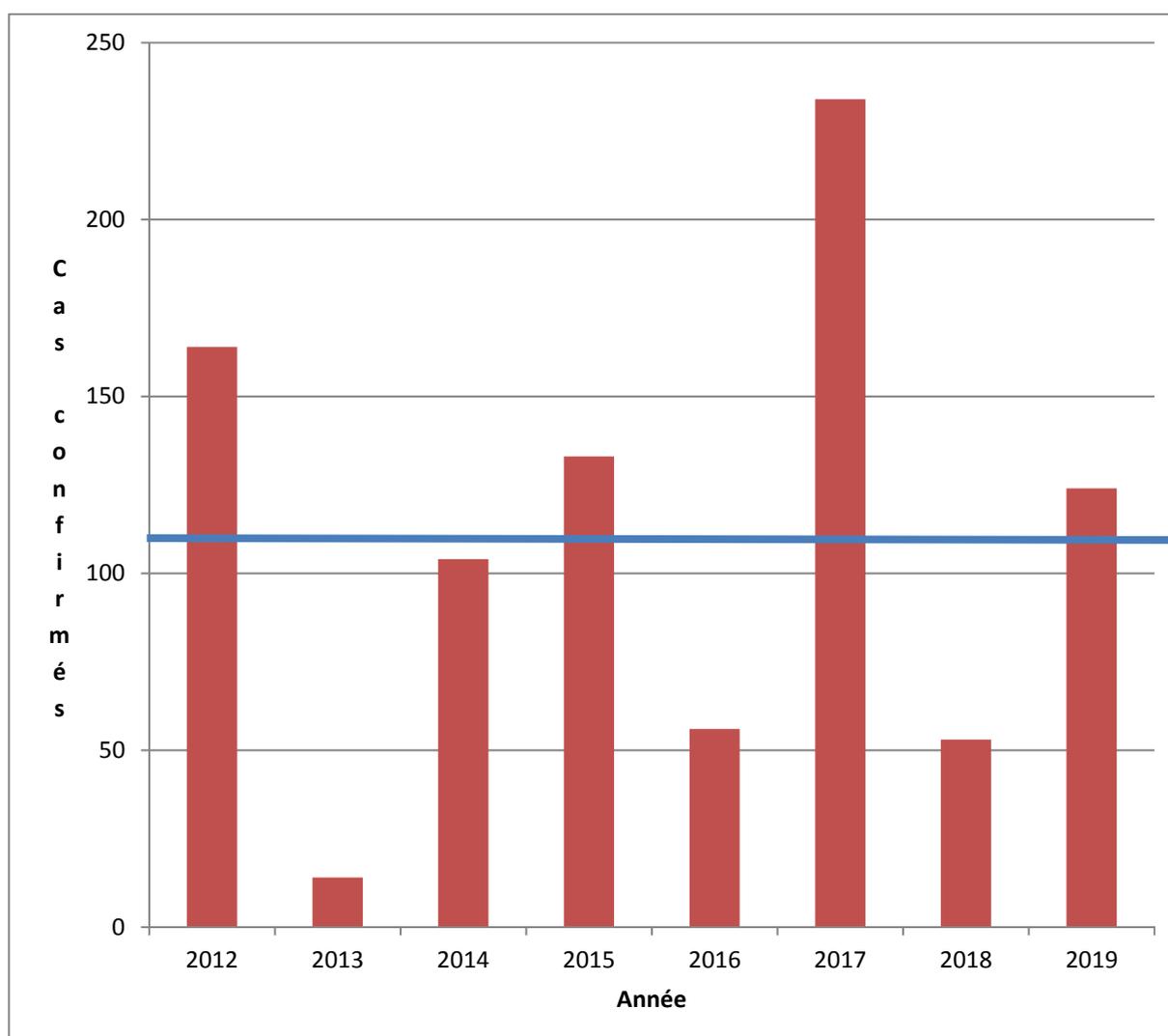
Tableau 8 : Sexe-ratio et âge médian des CCIRH résidant et exposés en France métropolitaine

Année (prélèvement)	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Nombre de cas	14	104	132	56	234	53	122*
Age médian	48,0	38,5	39,0	39,0	40,0	43,0	40,0
Sexe-ratio	2,5	4,2	2,7	2,3	2,5	2,1	5,1

* 4 cas parmi les 126 détectés en 2019 sont prélevés en 2018

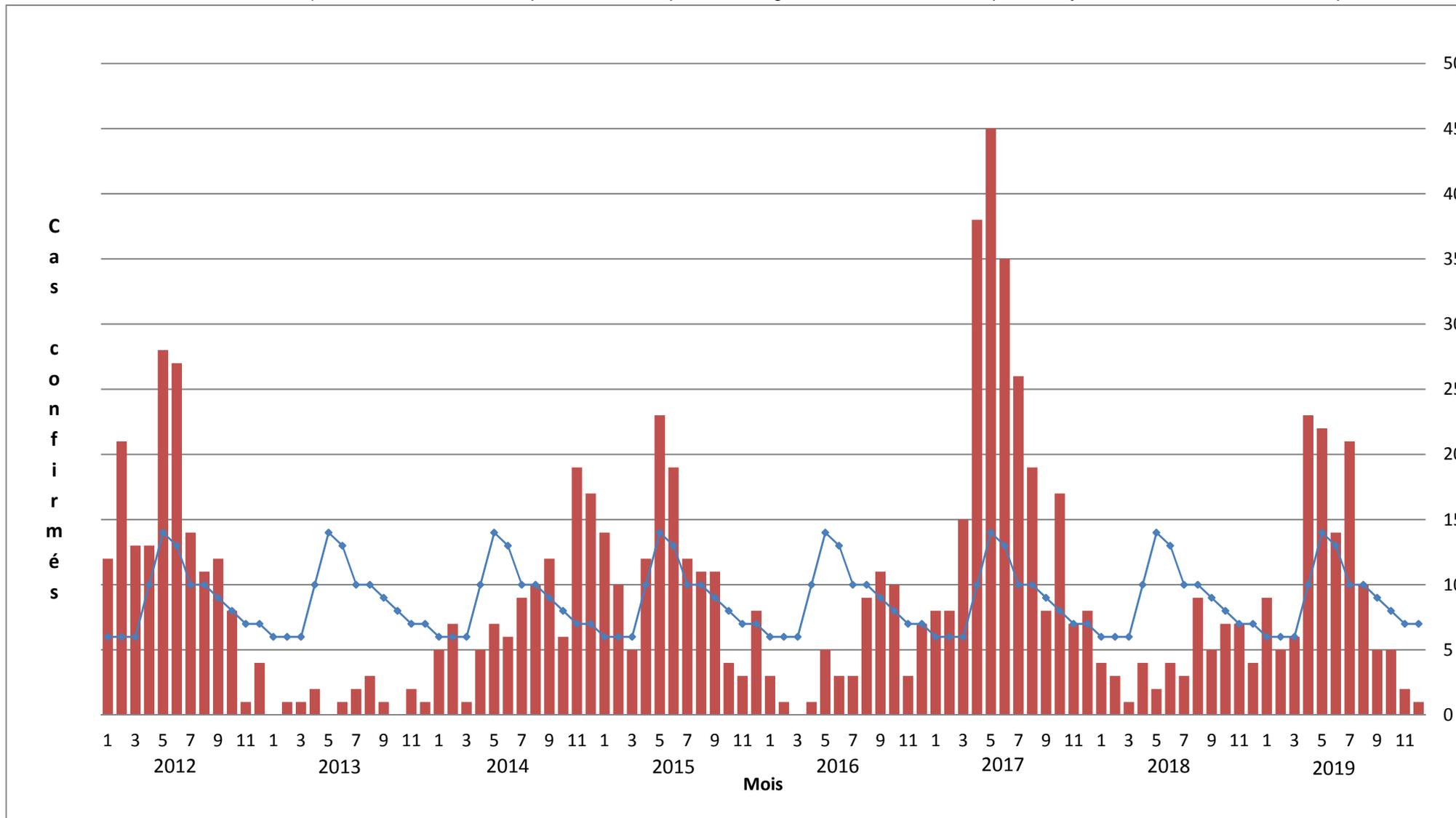
Le nombre de CCIRH détecté en 2019 se trouve au-delà de la moyenne (trait bleu) de cas détectés (110 cas) depuis 2012 (Figure 3). Sur cette période, nous observons des années dites « épidémiques » tous les deux à quatre ans. Ces variations d'incidence sont bien connues et ne sont pas dues à un biais de recrutement. Elles sont à mettre en rapport avec la dynamique des populations de rongeurs et la dynamique de circulation du virus dans ces populations qui ne font pas l'objet d'une surveillance.

Figure 3 : Distribution annuelle des cas confirmés d'infection par un hantavirus en France métropolitaine, 2012-2019 sur la base de la date du prélèvement du patient (le trait bleu représente la moyenne sur la période).



Le pic principal de détection est bien retrouvé au printemps (Figure 4).

Figure 4 : Distribution mensuelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine Janvier 2012 – Décembre 2019 (sur la base de la date de prélèvement du patient ; la ligne discontinue bleu indique la moyenne mensuelle de cas sur la période 2012-18)



La distribution géographique selon les départements des 126 CCIRH résidant en France métropolitaine est présentée sur la Figure 5. Les données se fondent d'abord 1/ sur le lieu (commune) probable d'exposition (n=78), puis s'il n'est pas indiqué 2/ sur le lieu (commune) de résidence du patient (n=48), et enfin s'ils ne sont pas indiqués 3/ sur le département d'origine du laboratoire ayant effectué le prélèvement (n=0). Tous les cas sont situés dans le quart Nord-Est de la France classiquement touché par les infections humaines par le virus Puumala, sauf deux cas d'infection par le virus Puumala détectés pour la première fois dans les départements de l'Allier et de l'Eure. Les foyers traditionnels d'endémie (Nord, Ardennes, Franche-Comté, Aisne et Oise) ont été actifs. (Figure 5, Tableau 9).

Figure 5 : Distribution spatiale des 126 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus détectés en France métropolitaine en 2019 (en hachuré, les départements où des cas ont été détectés sur la période 2003-2018).

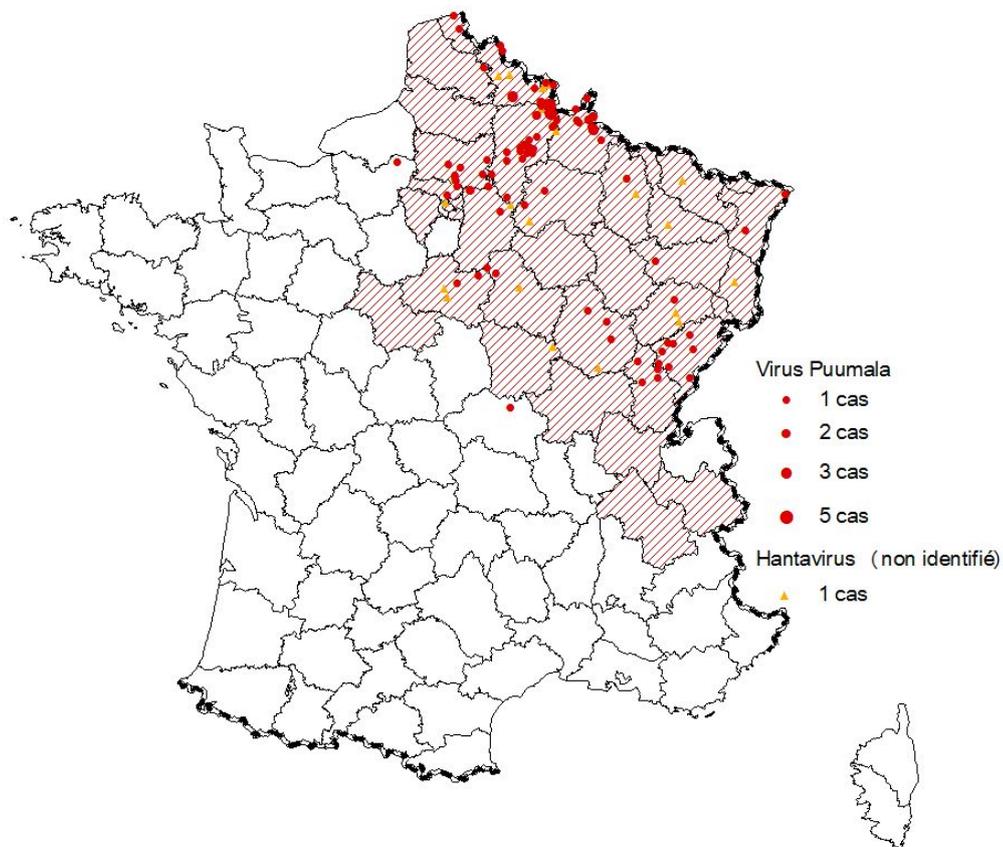


Tableau 9 : Distribution spatio-temporelle de cas confirmés d'infection récente par un hantavirus, 2019, France métropolitaine (départements avec cas détectés sur la période 2003-2019) : 4 cas d'infection par le virus Puumala détectés en 2019 ont été prélevés en novembre (1 de l'Aisne) et décembre (1 de l'Oise et 2 du Nord) 2018

Région	Département	Population Municipale Décret 2017	Année																						
			2014		2015		2016		2017		2018		2019												
			Total	Incid.†	Total	Incid.†	Total	Incid.†	Total	Incid.†	Total	Incid.†	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Hauts-de-France	02	538 659	33	6,10	15	2,77	20	3,70	37	6,87	15+1	2,97	2	2	1	7	3	7	2	3	3	1	0	0	31
	59	2 605 238	18	0,70	14	0,54	13	0,50	39	1,5	15+2	0,58	5	0	1	3	6	0	2	1	1	0	1	0	20
	60	821 552	6	0,74	1	0,12	2	0,25	9	1,1	2+1	0,24	1	0	0	2	1	1	1	1	0	0	0	0	7
	62	1 472 648	5	0,34	2	0,14	1	0,07	4	0,27	3	0,20	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	80	571 879	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grand-Est	08	277 752	18	6,37	34	12,02	7	2,48	30	10,8	5	1,80	1	2	0	3	5	1	4	0	0	0	0	0	16
	10	309 056	0	0	0	0	0	0	1	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	51	572 293	5	0,87	11	1,93	1	0,18	5	0,87	2	0,35	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3
	52	179 154	0	0	0	0	0	0	4	2,23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	54	734 403	0	0	0	0	0	0	3	0,41	1	0,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	55	190 626	2(1*)	1,04	4	2,07	2	1,04	5	2,62	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	3
	57	1 044 486	0	0	0	0	0	0	1	0,1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	67	1 116 658	0	0	2	0,18	0	0	4	0,36	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	68	762 607	0	0	1	0,13	1*	0,13	3	0,39	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
88	372 016	0	0	0	0	0	0	3	0,81	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	
Normandie	27	601 948	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	
Ile-de-France	75	2 206 488	0	0	2(1 [†])	0,09	2	0,09	0	0	1*	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	77	1 390 121	3	0,22	3(1 [‡])	0,22	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	3
	78	1 427 291	0	0	1	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	92	1 601 569	0	0	1	0,06	0	0	2	0,12	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	93	1 592 663	0	0	1	0,06	2	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	94	1 372 389	2	0,15	1	0,07	0	0	0	0	2	0,15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	95	1 215 390	0	0	0	0	0	0	2	0,16	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2
Centre V-de-L.	41	333 050	0	0	0	0	0	0	1	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	45	673 349	1	0,15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0	4	
Bourgogne-Franche-Comté	21	533 147	2(1*)	0,38	4	0,76	1	0,19	5	0,94	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0	0	0	4
	25	536 959	2	0,38	13	2,45	1	0,19	25	4,66	1	0,19	0	0	0	2	0	2	2	1	0	1	0	0	8
	39	260 587	4	1,53	7	2,68	3	1,15	33	12,66	1	0,38	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	4
	58	211 747	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	70	237 706	0	0	10	4,21	0	0	10	4,21	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3
	71	555 408	0	0	2	0,36	0	0	2	0,36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	89	340 903	1	0,29	1	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	90	144 483	0	0	1	0,69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Auvergne Rhône-Alpes	01	631 877	1*	0,16	0	0	0	0	2(1*)	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	341 613	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	38	1 251 060	1	0,08	0	0	0	0	4	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	73	428 204	0	0	1	0,24	0	0	0	0	1	0,23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		29 456 979	104	0,35	132	0,45	56	0,19	234	0,79	53	0,18	9	5	6	23	22	14	21	10	5	5	2	0	122

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

Région Antilles-Guyane (laboratoire associé)

En 2019, aucun cas d'infection aiguë par le virus Maripa n'a été identifié. La recherche systématique d'anticorps IgG anti-hantavirus n'a mis en évidence aucun cas en lien avec une infection ancienne (Tableau 10).

Le délai moyen de restitution des résultats (sérologie + détection moléculaire) a été de 5 jours par rapport à la date de réception au laboratoire.

Tableau 10 : Récapitulatif des résultats de diagnostic d'infection par un hantavirus, 2012 - 2019.

Année	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Echantillons biologiques reçus	15	35	14	15	15	19	18	23
Nombre de PCR positive	0	1	0	0	1	1	0	0
Nombre d'IgM anti-SNV positive	0	1	0	0	1	1	0	0
Nombre d'IgG anti-SNV positive	NT*	NT	0	2	2	0	2	0
Nombre de cas aigus détectés	0	1	0	0	1	1	0	0

* NT = non testé

3.3 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux

Non applicable (il n'y a pas de traitement spécifique par des anti-infectieux pour les maladies causées par les hantavirus).

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France

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 infections vectorielles, zoonotiques, et alimentaires, de la direction des Maladies Infectieuses de l'agence nationale de santé publique, Santé publique France.
- au bureau des risques infectieux émergents et des vigilances de la direction générale de la santé,
- au laboratoire associé (Institut Pasteur de Guyane),
- aux partenaires du réseau de laboratoires métropolitains effectuant un diagnostic de première intention (cf. 2.5.1).

Le laboratoire coordonnateur a également des échanges réguliers par email ou par téléphone avec l'unité des infections zoonotiques, vectorielles et alimentaires de la direction des maladies infectieuses de l'agence Santé publique France (cf. § 4).

Le laboratoire associé contribue à l'alerte sanitaire en signalant à la cellule de veille d'alerte et de gestion sanitaire de l'ARS concernée, à la Cire concernée, et au laboratoire coordonnateur l'identification de tout nouveau cas humain ou phénomène anormal.

Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens

Le CNR des Hantavirus est membre du réseau européen pour la détection précoce et la surveillance des maladies virales (ré-)émergentes ou EVD-LabNet (acronyme de **Emerging Viral Diseases-Expert Laboratory Network**) soutenu par l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) : <https://www.evd-labnet.eu/> (ce réseau est une refonte du précédent réseau ENIVD European Network for diagnostics of Imported Viral Diseases). Les objectifs de ce réseau sont en particulier de partager les connaissances sur le diagnostic et la surveillance des maladies virales émergentes. Plusieurs autres CNR hébergés par l'Institut Pasteur (CNR FHV, CNR Influenzae, et CNR Rage) ainsi que la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) de l'Institut Pasteur en sont membres. Christophe Batejat, responsable adjoint de la CIBU et correspondant Qualité du CNR Hantavirus est le point focal de l'Institut Pasteur pour ce réseau. Il a participé à la 4^{ème} réunion des membres de ce réseau qui s'est tenue à Thessaloniki (Grèce) du 4 au 6 novembre 2019. Il a été convenu au cours de cette réunion d'organiser en 2020 dans le réseau un contrôle qualité externe diagnostic moléculaire et sérologique des hantavirus.

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>). Les données de surveillance sont transmises annuellement à l'ECDC *via* Santé publique France.

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).

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 avec Jean-Michel Héraud à l'Institut Pasteur de Madagascar, Emmanuel Nakouné à l'Institut Pasteur de Bangui, Veasna Duong à l'Institut Pasteur du Cambodge, et bien sûr l'Institut Pasteur de Guyane, laboratoire associé du CNR.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Le CNR a continué à s'intéresser à l'origine géographique et au nombre de patients résidant en métropole prélevés pour un diagnostic de 1^{ère} intention 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, sur l'ensemble du territoire métropolitain et dans quelle proportion. Les dernières données obtenues portent sur les années 2018-2019.

Le nombre de demandes de diagnostic est de l'ordre de ceux observés en 2012, 2014, 2016 pour lesquelles le nombre de cas détectés étaient similaires (Tableau 11).

Tableau 11 : Caractéristiques des patients prélevés en France métropolitaine pour un diagnostic d'hantavirose 2012-2019.

Année	Nombre de patients prélevés	Patients prélevés en zone d'endémie*	Cas confirmés
2012	1 872	84% (1 209 / 1 411)*	8,7% (164 / 1 872)
2013	1 111	82% (969 / 1 111)	1,2% (14 / 1 111)
2014	1 604	87% (1 395 / 1 604)	6,5% (104 / 1 604)
2015	1 734	91% (1 570 / 1 734)	7,7% (132 / 1 734)
2016	1 556	90% (1 377 / 1 531)	3,6% (56 / 1 556)
2017	1 952	89% (1 741 / 1 949)	12,2% (238 / 1 952)
2018	1 529	87% (1 335 / 1 528)	3,5% (54 / 1 529)
2019	1 789	86% (1 538 / 1 782)	7,2% (129 / 1 789)

* le département d'origine n'est pas connu pour 461 cas en 2012, 25 en 2016, 3 cas en 2017, 1 en 2018 et 7 en 2019

NB : données non disponibles en 2018 et 2019 pour le CHU de Reims et le CH de Saint-Quentin (qui représentent annuellement environ 5% des patients prélevés).

Les demandes restent les plus abondantes au cours de l'été (Figure 6). *Il existe toujours une disparité géographique des demandes.* Le pourcentage de patients prélevés en zone d'endémie reste très élevé (Tableau 11 ; Figure 7).

Figure 6 : 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 – 2019.

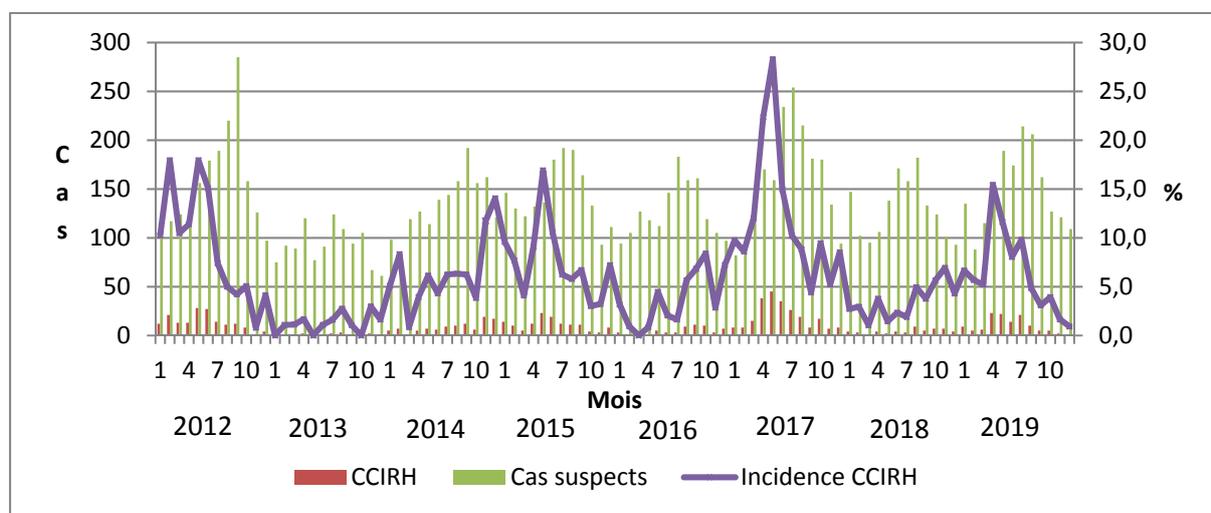
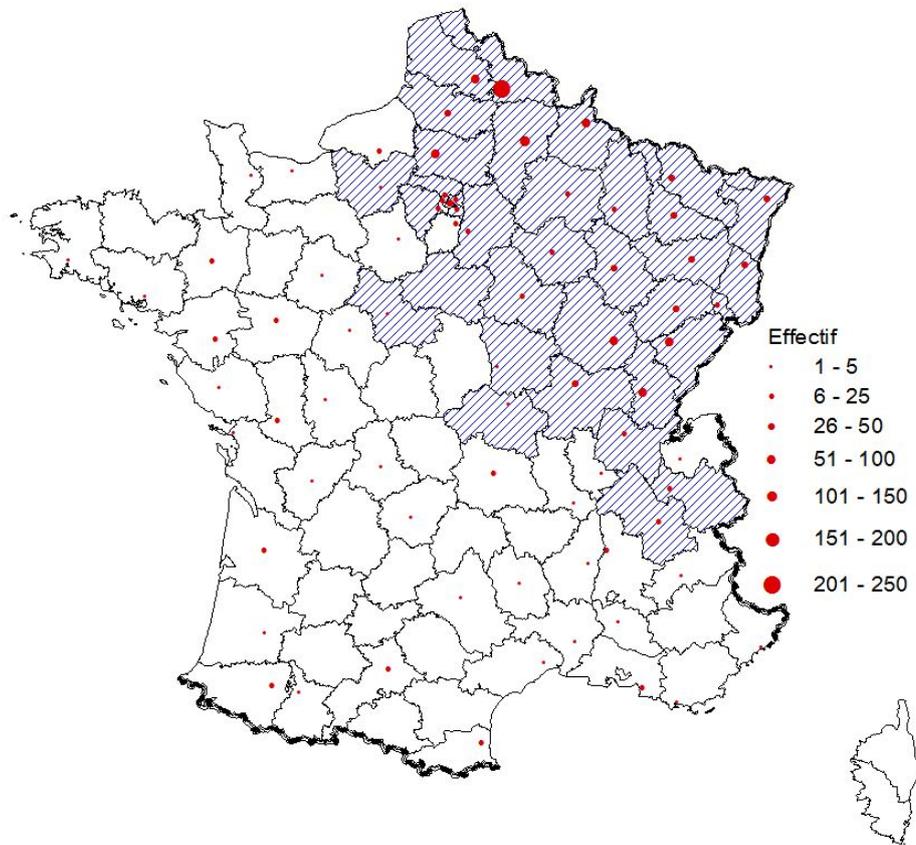
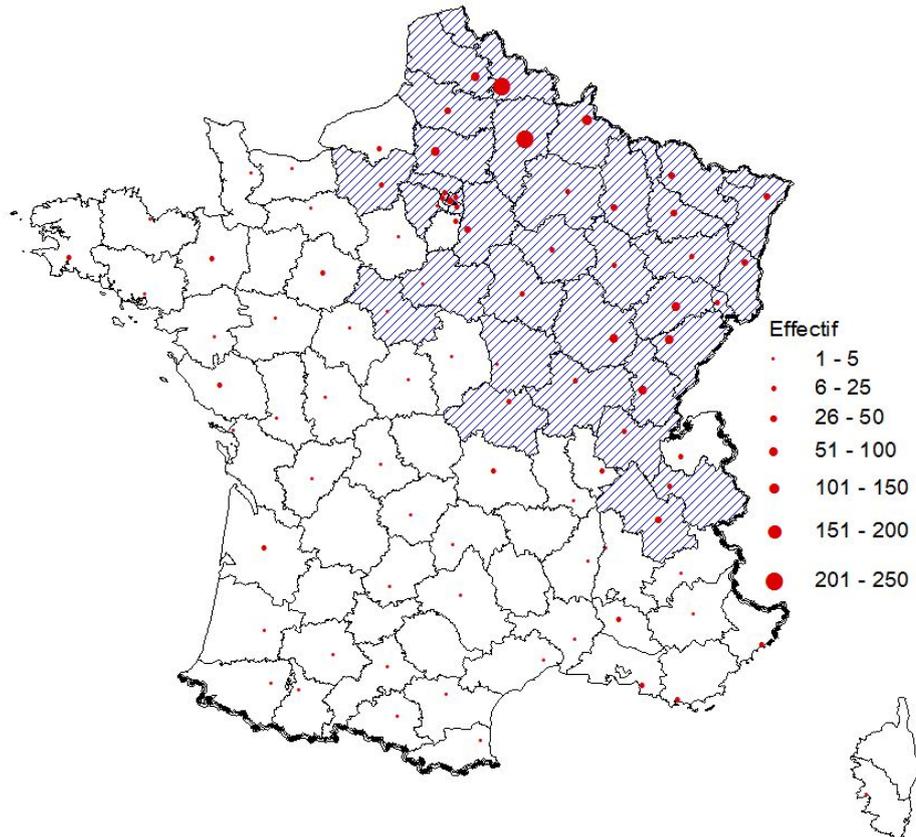


Figure 7 : Distribution spatiale des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus en France métropolitaine et par département (rond rouge par département) : A 2018 ; B 2019. La distribution se fonde sur le département du lieu de prélèvement ou sur celui du laboratoire transmetteur 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 2019.

A. 2018



B. 2019



4 Alertes

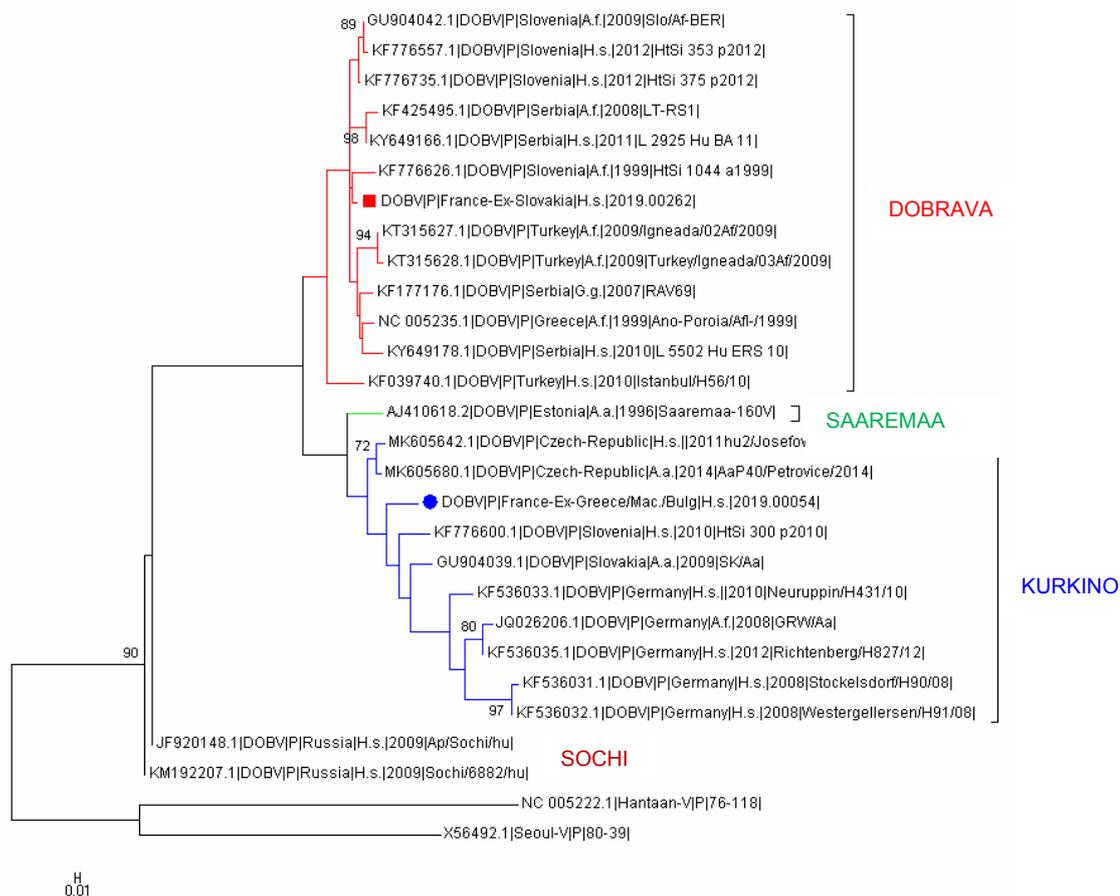
Au besoin, des alertes sont émises par email auprès de nos interlocuteurs de l'unité des Infections vectorielles, zoonotiques, et alimentaires du département des maladies infectieuses de Santé publique France (SpF). Les réponses apportées à nos alertes par nos interlocuteurs de SpF ont toujours été très rapides et constructives.

4.1 Détection de 2 cas importés d'infection par le virus Dobrava-Belgrade

Le premier cas était un patient de 48 ans résidant dans la banlieue de Lyon, plombier de profession, malade au mois de septembre 2018. Il était intervenu une semaine auparavant dans la réparation de conduites d'eaux usées en Isère (exposition possible au virus Seoul) mais surtout était également revenu 3 semaines auparavant d'un séjour d'un mois en milieu rural dans différents pays de la région des Balkans où l'hantavirus Dobrava-Belgrade est endémique, à savoir la Grèce, le Macédoine et la Bulgarie. Le syndrome hépato-rénal était classique avec une évolution favorable. Le génotype DOBV détecté était le génotype Kurkino, responsable d'une forme bénigne de la maladie (Figure 8).

Le deuxième cas était un patient de 52 ans, malade au mois de juin et entré tout récemment en France après avoir traversé au moins la Turquie, la Macédoine, la Serbie, la Bosnie et l'Italie. Le syndrome hépato-rénal était classique avec une évolution favorable. Le génotype DOBV détecté était le génotype Dobrava, pouvant être responsable d'une forme sévère de la maladie (Figure 8).

Figure 8: Arbre phylogénétique construit avec les séquences partielles du segment L (195 nt) de souches du virus Dobrava-Belgrade. Les séquences obtenues des 2 cas (● et ■) ont été comparées à des séquences disponibles dans GenBank et représentatives des génotypes de DOBV (Kurkino, Dobrava, Sochi et Saaremaa) et pays où DOBV a été détecté. L'arbre a été préparé en utilisant Mega 7.0 and le modèle paramétrique Tamura 3 and 5 catégories (meilleur modèle de substitution proposé). Les pourcentages de bootstrap $\geq 70\%$ (1000 tirages) sont indiqués à chaque nœud. Les numéros d'accèsion Genbank sont indiqués pour les souches de référence. L'échelle indique la fréquence de substitution nucléotidique par site.



4.2 Extension de la zone traditionnelle d'endémie du virus Puumala

Un cas d'infection par PUUV a été détecté dans le Nord de l'Allier. Le patient était un travailleur forestier âgé de 43 ans, malade en juillet.

Un autre cas a été détecté dans l'est de l'Eure. Le patient, chaudronnier, âgé de 17 ans et malade en juillet avait des activités rurales l'exposant au virus Puumala.

A noter également, la détection de 4 cas dans le Loiret, département où jusqu'à présent un seul cas avait été détecté (en 2014).

5 Activités de rétro-information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé ;

/

Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques

/

Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion)

/

Modalités et cibles de la diffusion des données de surveillance et productions:

Rétro-information aux partenaires :

Les modalités de diffusion des données de surveillance auprès des partenaires sont détaillées au § 3.4.

Information/formation :

Les pages du site Web du CNR des Hantavirus, mises en ligne pour la première fois en décembre 2012, font l'objet de mises à jour régulières avec en particulier l'ajout chaque mois du rapport mensuel de surveillance (<https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/hantavirus>).

Le site Web du CNR présente sur sa page d'accueil les coordonnées du laboratoire coordonnateur et celles du laboratoire associé.

Le site est très utile en particulier pour informer nos correspondants des conditions pré-analytiques. Les extraits des rapports des années d'exercice 2012 à 2018 y sont actuellement disponibles. Un total de 3 948 visiteurs est dénombré sur l'année 2019, 77% d'entre eux ayant consulté la page « La maladie – Recommandations ». Le temps moyen par page visualisée est de 3 min, mais un taux global de rebond élevé (83%).

Concernant le laboratoire coordonnateur, au moins deux postes téléphoniques fixes (secrétariat et responsable du laboratoire coordonnateur) peuvent être joints pendant les heures ouvrables. En dehors des heures ouvrables, un message donne les numéros de téléphone mobile du responsable du laboratoire coordonnateur ou de son adjoint. Une adresse email générique cnr-hantavirus@pasteur.fr a été créée et renvoie les messages au personnel du CNR. Seuls le responsable et son adjoint exercent l'activité de conseil. Les appels sont tracés sur un fichier de type Excel partagé par le personnel où sont notés l'objet de l'appel reçu et la réponse apportée.

Le laboratoire associé à l'Institut Pasteur de la Guyane dispose d'un site web faisant

l'objet de mises à jour régulières sur lequel sont présentés le laboratoire de virologie et le CNR des hantavirus. Pendant les heures ouvrables, le responsable et le responsable adjoint peuvent être contactés par téléphone, mail ou fax. Une adresse électronique générique cnrhantavirus@pasteur-cayenne.fr (automatiquement redirigée sur les boîtes mail des responsables) est également disponible.

Le laboratoire associé est également amené à effectuer des prestations de conseil auprès des professionnels de santé (cliniciens, biologistes, médecins généralistes ou public) essentiellement par courriel ou par téléphone aux heures ouvrées du laboratoire. Ces prestations sont exclusivement réalisées par le responsable ou le responsable adjoint du CNR. Dans le cadre du renforcement de la démarche qualité, ces prestations sont tracées via l'ouverture de fiches « Prestations de conseil ».

Activités de conseil aux professionnels de santé :

Le laboratoire coordonnateur a enregistré 30 prestations de conseil par téléphone, email ou courrier:

- il a été sollicité en pré-analytique pour savoir si une suspicion d'infection par un hantavirus pour un patient était justifiée (n=4) et/ou précisé les conditions pré-analytiques (n=7).
- il y a eu également 2 sollicitations analytiques (demande de spécificité d'un test et demande de partage de technique par Jelena Protic du Torlak-Institut of Virology Vaccine & Sera, Belgrade, Serbie)
- les 7 sollicitations post-analytiques nous ont amenés à commenter des comptes rendus de résultats d'examens
- il y a eu enfin 10 questions qui ont porté sur la survie du virus dans l'environnement en lien avec une exposition éventuelle (n=5), sur la protection croisée suite à une infection (n=1), sur l'efficacité de la ribavirine dans le traitement (n=1), et enfin sur des présentations cliniques (n=3). Pour répondre à deux de ces 3 dernières demandes, nous avons fait appel à l'expertise de notre référent médical, le Dr. Galempoix, responsable du service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses du CH de Charleville Mézières.

Le laboratoire associé a enregistré une prestation de conseil en lien avec l'expertise hantavirus au cours de l'année 2019 concernant le diagnostic différentiel des hantavirus du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde (clinicien du Centre Hospitalier de Cayenne). En effet, certaines demandes sont associées à une demande de diagnostic leptospirose laissant supposer une recherche d'hantavirus Ancien Monde.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Evaluation pour les autorités sanitaires d'un pays européen d'un dossier de candidature CNR Hantavirus déposé par un laboratoire.

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public, etc.)

Aucune sollicitation en 2019.

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

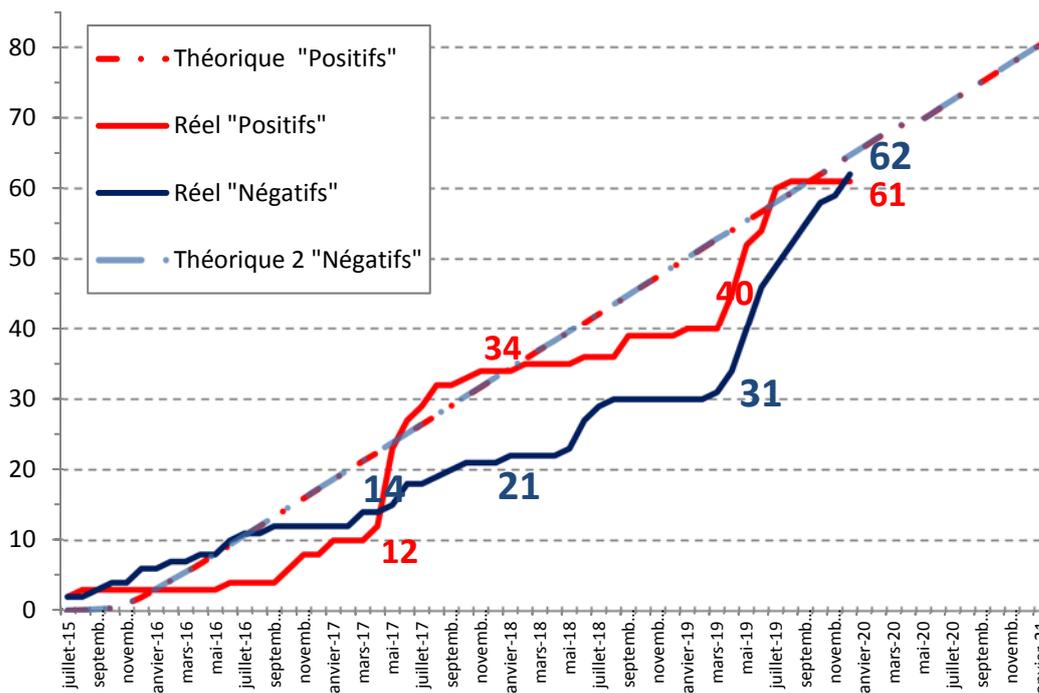
6.1 PHRC-N HANTADIAG (labo. coordonnateur)

Nous avons obtenu un financement fin décembre 2014 *via* l'appel Programme Hospitalier de Recherche Clinique National (PHRC) 2014, pour un projet co-coordonné avec le Dr. Penalba puis par le Dr. JM Galempoix du Centre Hospitalier de Charleville-Mézières (promoteur) et en partenariat avec les centres hospitaliers de Belfort-Montbéliard, du Sud de l'Oise, de Laon, de Saint-Claude, de Verdun ainsi que les centres hospitaliers universitaires de Besançon, Dijon, Nancy, et Reims. Le CNR des Hantavirus reçoit l'appui de deux entités de l'Institut Pasteur à Paris pour le management de données, les analyses statistiques, les aspects éthiques et réglementaires et le respect des bonnes pratiques de recherche clinique.

Ce projet d'une durée initiale de 42 mois vise d'abord à évaluer les performances de 9 trousse commerciales de diagnostic sérologique des hantaviruses dans les conditions usuelles d'utilisation, à l'admission, chez des patients hospitalisés avec des signes évocateurs d'une infection par le virus Puumala, avec comme retombée attendue de recommander pour la métropole les trousse de diagnostic sérologique ayant eu les meilleures performances. Il consiste secondairement à étudier la cinétique virale dans le plasma et l'urine de ces patients et à évaluer ainsi l'intérêt d'un prélèvement d'urine pour le diagnostic moléculaire d'une hantavirose (seuls les patients ayant un résultat positif pour le test rapide Reagent Reascan PUUV IgM sont concernés par ce deuxième objectif).

L'année 2019 a permis de rattraper un retard dans nos inclusions (qui s'expliquait par des périodes inter-épidémiques en 2016 et 2018 au cours desquelles peu de patients ont pu être inclus) (Figure 9). Afin d'atteindre nos objectifs d'inclusion (80 cas et 80 non cas), la période d'inclusion a été prolongée de 2 ans. Une nouvelle année d'inclusion est programmée en 2019.

Figure 9 : courbes d'inclusions des patients avec résultat du test rapide Reagent POC IgM Puumala positifs, limites ou négatifs (PHRC-N HANTADIAG)



6.2 Syndrome de fuite capillaire associé à la sévérité du syndrome pulmonaire à hantavirus provoqué par le virus Maripa

En 2017, un cas humain d'infection par le virus Maripa a pu être identifié. Le patient, âgé de 47 ans, avait été admis au service de réanimation de l'hôpital de Cayenne pour fièvre, tachycardie, choc hémodynamique, syndrome de détresse respiratoire aiguë avec des signes d'hémorragie intra-alvéolaire et d'insuffisance rénale aiguë. Ces symptômes étaient compatibles avec une infection aiguë par un hantavirus. Ce dernier cas humain (non fatal) a permis d'étudier la sévérité du syndrome pulmonaire à hantavirus provoqué par le virus Maripa. Une hypothèse pour expliquer cette sévérité serait le tropisme des hantavirus pour les cellules endothéliales microvasculaires. Ce tropisme provoquerait une hyperperméabilité microvasculaire avec fuite de liquide et de protéines conduisant à une hypovolémie et à un œdème pulmonaire non cardiogénique.

Chez notre patient, les investigations hémodynamiques ont montré une hypovolémie avec de faibles pressions de remplissage, sans aucun dysfonctionnement ventriculaire. Une quantité élevée d'eau pulmonaire extravasculaire ainsi qu'une augmentation de la perméabilité vasculaire ont également été observées. L'épanchement pleural était exsudatif et contenait une grande quantité de protéines qui peut s'expliquer par une fuite protéique plutôt que par une origine inflammatoire. Il apparaît ainsi que l'hantavirus Maripa est plus responsable de syndrome pulmonaire à hantavirus que de syndrome cardio-pulmonaire à hantavirus (HCPS). Le syndrome pulmonaire à hantavirus induit par ce virus peut ainsi causer de graves dommages menant à une défaillance multi-organes. La gravité de la maladie peut s'expliquer par une réaction inflammatoire et immunitaire dérégulée provoquant une fuite capillaire sévère sans atteinte cardiaque.

Travaux publiés (cf. § 6.3)

6.3 Publications et communications en lien avec les missions et activités du CNR

- Publications nationales

/

- Publications internationales

Reynes JM, Carli D, Thomas D, Castel G. Puumala Hantavirus Genotypes in Humans, France, 2012-2016. *Emerg Infect Dis.* 2019 Jan;25(1):140-143.

Clement J, LeDuc JW, McElhinney LM, Reynes JM, Van Ranst M, Calisher CH. Clinical Characteristics of Ratborne Seoul Hantavirus Disease. *Emerg Infect Dis.* 2019 Feb;25(2):387-388.

Kallel H, Matheus S, Mayence C, Houcke S, Mathien C, Lavergne A, Hommel D. Capillary leak-syndrome triggered by Maripa virus in French Guiana: case report and implication for pathogenesis. *BMC Infect Dis.* 2019 Mar 15;19(1):260.

Clement J, LeDuc JW, Lloyd G, Reynes JM, McElhinney L, Van Ranst M, Lee HW. Wild Rats, Laboratory Rats, Pet Rats: Global Seoul Hantavirus Disease Revisited. *Viruses.* 2019 Jul 17;11(7). pii: E652.

Raharinosy V, Heraud JM, Rabemananjara HA, Telfer S, Rakoto DAD, Filippone C, Reynes JM. Fast, Sensitive and Specific Detection of Thailand orthohantavirus and its Variants Using One-Step Real-Time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Assay. *Viruses.* 2019 Aug 6;11(8). pii: E718.

Filippone C, Castel G, Murri S, Ermonval M, Korva M, Avšič-Županc T, Sironen T, Vapalahati O, McElhinney LM, Ulrich RG, Groschup MH, Caro V, Sauvage F, van der Werf S, Manuguerra JC, Gessain A, Marianneau P, Tordo N. Revisiting the genetic diversity of emerging hantaviruses circulating in Europe using a pan-viral resequencing microarray. Sci Rep. 2019 Aug 27;9(1):12404.

Autres publications où le CNR est remercié en tant que collaborateur (identification de souche, relecture de manuscrit):

Pastissier A, Humbert S, Naudion P, Meaux-Ruault N, Badoz M, Magy-Bertrand N. Severe Sinus Bradycardia in Puumala virus infection. Int J Infect Dis. 2019 Feb;79:75-76.

Baillieux A, Le TL, Rouland JF. Acute angle-closure glaucoma with choroidal effusion revealing a hantavirus infection: Description of ultrasound biomicroscopy imagery and optical coherence tomography Visante. Eur J Ophthalmol. 2019 Jul 1:1120672119858895.

- Communications orales nationales

/

- Communications orales internationales

/

- Communications affichées nationales

/

- Communications affichées internationales

Antoine M, Langlois ME, Bres E, Rabeyrin M, Ripaux-Lefevre M, Caro V, Lega JC, Fouque D, Reynes JM, Deeb A. A human Dobrava-Belgrade virus infection in France. 11th International Conference on Hantaviruses. Leuven (Belgium), 1-4 September 2019.

- Conférence sur invitation:

/

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

7 Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux

Il n'existe pas en matière d'hantavirus un laboratoire national de référence pour le volet animal de l'infection. Néanmoins, le laboratoire coordonnateur a établi des relations avec des laboratoires s'intéressant à la faune sauvage, et en particulier aux hôtes naturels des hantavirus (Anses, Inrae) mais jusqu'à présent, les projets proposés à différents appels n'ont pas été retenus (dont le dernier soumis à l'appel à projet générique de l'ANR en 2018, non retenu finalement après avoir été sélectionné à la première étape). Le partage d'information porte actuellement sur les noms des communes situées en dehors de la zone d'endémie du virus Puumala et où des cas d'infection par un hantavirus ont été récemment détectés. Cette information permet à ces équipes de cibler des zones de capture de rongeurs.

Le laboratoire associé travaille en collaboration avec le laboratoire des Interactions Virus-Hôtes de l'IPG qui étudie depuis de nombreuses années la circulation des hantavirus dans les réservoirs rongeurs sauvage en Guyane.