

EXTRAIT DU RAPPORT ANNUEL D'ACTIVITE 2024

Année d'exercice 2023

CNR Hantavirus

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire Coordonnateur	Institut Pasteur, Unité Environnement et Risques Infectieux	Virginie SAUVAGE
Laboratoire Associé	Institut Pasteur de la Guyane, Laboratoire de Virologie	Anne LAVERGNE

SOMMAIRE

Erreur ! Signet non défini.

Résumé analytique	4
Faits marquants	4
Executive summary	5
Highlights	5
1. Missions et organisation du CNR	6
Organigramme	6
Mission et Organisation	6
Démarche Qualité	8
2. Activités d'expertise	9
2.1 Capacité techniques	9
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et troussees	10
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	10
2.4 Matériel biologique transféré vers d'autres laboratoires	10
2.5 Activités d'expertises	11
2.6 Activités de séquençage	13
2.7 Partage de séquences produites par les CNR	15
3. Activités de surveillance	16
3.1 Description du réseau de partenaires	16
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	18
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux	25
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	25
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	26
4. Alertes	28
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	29
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé	29
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	30
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	31
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	32
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	32
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR	36
7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	38

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 zoonotiques, vectorielles, 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.

RESUME ANALYTIQUE

Faits marquants

Le CNR des Hantavirus a été pour la période allant du 1^{er} janvier 2023 au 31 décembre 2027 placé sous la responsabilité de l'Institut Pasteur (laboratoire coordonnateur) et de l'Institut Pasteur de Guyane (IPG) 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 2023 sont les suivants:

- une année inter-épidémique en France métropolitaine avec seulement 50 cas humains d'infection récente par un hantavirus (essentiellement le virus Puumala) bien en deçà de la moyenne annuelle de cas détectés sur la période 2012-2022 (n=114). La médiane d'âge (45,0 ans) et le sexe-ratio (3,5) des cas sont conformes à ceux attendus,
- une zone traditionnelle d'endémie inchangée avec 74% des cas détectés dans les foyers de l'Avesnois (partie sud du département du Nord (59) et, les départements de l'Aisne (02) et des Ardennes (08),
- la confirmation de l'appartenance des souches de virus Puumala de la France métropolitaine à la lignée « Europe centrale » et la présence de deux sous-lignées, une située principalement dans le nord-est de la zone d'endémie française et l'autre dans le sud sud-est de la zone d'endémie,
- la détection d'un cas d'infection par le virus Tula dans le département de la Côte d'Or (21). Il s'agit du 2^{ème} cas détecté depuis la mise en place du diagnostic moléculaire en 2012,
- aucun cas d'infection récente par l'hantavirus Maripa n'a été détecté par le laboratoire associé (Institut Pasteur de Guyane) en 2023. Depuis 2008, onze cas d'infection par le virus Maripa ont été détectés en Guyane dont six décès,
- la recommandation du kit RealStar® Hantavirus-HFRS RT-PCR RUO 1.0 (Altona Diagnostics) pour la détection du virus Puumala dans des échantillons cliniques de plasma et sérum,
- la mise en place d'une approche PCR Multiplex (AmpliSeq) pour le séquençage du génome complet (segments S, M et L) des souches et isolats du virus Seoul,

EXECUTIVE SUMMARY

Highlights

The Hantavirus NRC has been endorsed for the January 2023 to December 2027 period by the Institut Pasteur (coordinator laboratory) and by 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:

- an inter-epidemic year in metropolitan France, with only 50 acute hantavirus human cases detected (mostly Puumala virus), well short of the annual average of cases detected during the 2012-20212 period (n=114). The parameters were classical (pic of cases detection at the end of spring, median age 45.0 years, sex-ratio 3.5).
- the traditional endemic areas was unchanged and active, especially in the Avesnois, Aisne and Ardennes
- confirmation that the PUUV French strains belong to the Central European lineage with the presence of two sub-lineages, one including strains located mostly in the North-East part of the French endemic area and the second including strains located mostly in the south south-east part of the endemic area,
- the detection of one human TULV case in Côte-d'Or department (21). That is the 2th case detected since the implementation of the molecular diagnostic in 2012,
- no human cases of Maripa hantavirus infection have been diagnosed in French Guiana in 2023. Since 2008, eleven cases of Maripa hantavirus infection have been detected in French Guyana, including six deaths,
- the recommendation of the RealStar® Hantavirus-HFRS RT-PCR Kit 1.0 (RUO; Altona Diagnostics) for the detection of Puumala virus in clinical plasma and serum samples,
- the implementation of a Multiplex PCR (AmpliSeq approach) for the HTS sequencing of Seoul virus complete genome (segment S, M and L)

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme

Cinq personnes sont régulièrement impliquées dans les activités du CNR des Hantavirus : le responsable du laboratoire coordonnateur et le responsable-adjoint, deux techniciennes (suppléées par 1 autre technicien de l'unité ERI), et enfin l'assistante de l'unité ERI qui est également la correspondante Qualité du CNR des Hantavirus (Figure 1).

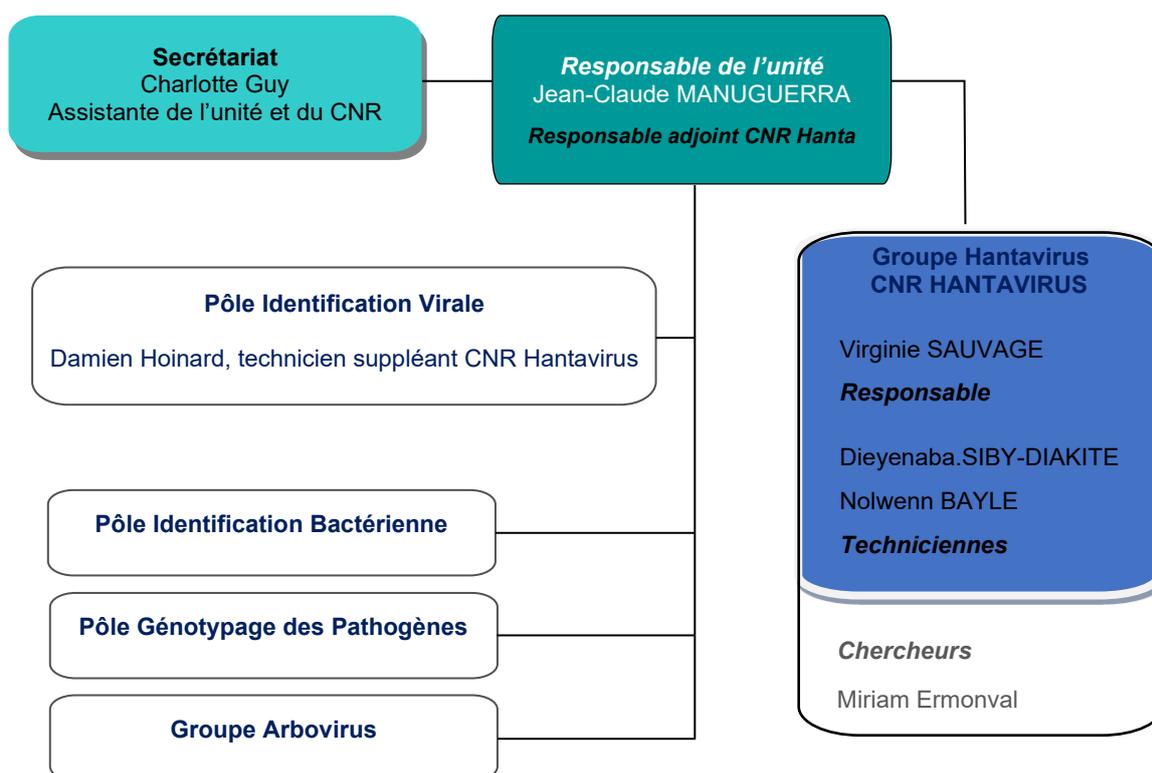


Figure 1 : Organigramme du laboratoire coordonnateur, Institut Pasteur à Paris

Cinq membres du laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane, trois virologues et deux techniciennes, sont impliqués dans les activités du laboratoire associé (Tableau 14). En cas d'absence de la virologue responsable (Anne Lavergne), la suppléance est assurée par la responsable du laboratoire de virologie (Dominique Rousset).

Missions et Organisation

Les nouvelles missions du CNR sont définies dans l'appel à candidature de l'agence nationale de santé publique (Santé Publique France) le 2 mars 2022 et confiées par arrêté du 30 décembre 2022, pour la période allant du 1er Janvier 2023 au 31 décembre 2027, à l'Unité Environnement et Risques Infectieux (ERI) de l'Institut Pasteur à Paris (laboratoire coordonnateur ou « LC ») et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé ou CNR Hantavirus-LA).

a). 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) ;

- en apportant son expertise 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.

b). 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.

c). 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.

d). 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.

A noter que depuis le 1^{er} janvier 2023, tel que spécifié dans l'arrêté du 2 mars 2022 fixant le cahier des charges des centres nationaux de référence pour la lutte contre les maladies transmissibles, « les CNR s'engagent à ne réaliser, que de façon exceptionnelle, des actes qui constituent des activités habituelles de diagnostic des laboratoires d'analyse de biologie médicale (identification de souches courantes et diagnostics sérologiques), quand ces techniques ne sont pas facilement accessibles aux laboratoires de biologie médicale; dans tous les cas, les analyses pratiquées par les CNR donnent lieu à facturation auprès du laboratoire de biologie médicale qui lui a transmis l'échantillon à analyser ».

Par conséquent, depuis le 1^{er} janvier 2023, **le CNR des HANTAVIRUS n'effectue plus de diagnostic de laboratoire d'une hantavirose en première ligne**. Le CNR ne traite plus que les échantillons reçus de laboratoires ayant déjà effectué ce diagnostic et ce, à titre d'expertise (confirmation de diagnostic, identification et caractérisation de souches d'hantavirus).

Le CNR étudie néanmoins toute demande en première intention dans un contexte de situation exceptionnelle. Il est demandé de prendre contact avec le responsable du CNR ou son adjoint pour étudier toute demande (le CNR se réserve le droit de refuser la prestation en l'absence d'accord préalable).

Les activités mises en œuvre, et en particulier en 2023, sont précisées en annexe 1 (§ 1.5).

Le laboratoire coordonnateur dispose d'une accréditation COFRAC (N° 8-2588) selon la norme NF EN ISO 15189 2012 pour trois techniques de détection moléculaire dans la ligne de portée Domaine Biologie Médicale – Sous domaine Microbiologie – Sous-famille Virologie spécialisée (VIROH) code BM VB01 et pour trois techniques sérologiques dans la ligne de portée Domaine Biologie Médicale – Sous-domaine Microbiologie – Sous-famille Microbiologie générale (MICROBIOBM) code BM MG01. Ces techniques accréditées couvrent, depuis juillet 2017, 100% des examens de diagnostic exécutés.

A l'occasion de l'audit COFRAC en Juin 2022 (visite de surveillance), le laboratoire coordonnateur a obtenu le maintien de cette accréditation. Le CNR n'a pas eu d'audit du COFRAC en 2023.

Le laboratoire de virologie de l'IPG, qui héberge le CNR Hantavirus-LA, est accrédité selon la norme NF EN ISO 15189 et les règles d'application du COFRAC sous le numéro 8-3373 depuis novembre 2014 (sous-famille concernée : microbiologie générale / portée A).

A l'occasion de la visite de renouvellement du COFRAC en Juillet 2023, le laboratoire associé a obtenu le maintien de cette accréditation pour la technique de détection moléculaire de l'hantavirus Maripa dans la ligne de portée Domaine Biologie Médicale – Sous domaine Microbiologie – Sous-famille Virologie spécialisée (VIROH).

Conformément à l'article L 5139-1 du code de Santé Publique et à l'arrêté du code de la Santé Publique, en date du 26 avril 2012, fixant la liste des micro-organismes et toxines (MOT), le laboratoire coordonnateur dispose, via le responsable de l'unité ERI (Mr Jean-Claude Manuguerra), d'autorisations de détention et de mise en œuvre des micro-organismes hantavirus Dobrava-Belgrade, Hantaan, Sin Nombre, Andes, et Laguna Negra, et de leur matériel génétique, délivrées par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Les hantavirus Seoul et Choclo ont été sortis de la liste des MOT dans l'arrêté du 26/04/2023. Ces autorisations sont valables jusqu'au 24 avril 2028.

Le CNR Hantavirus-LA détient du virus Sin Nombre inactivé servant de matrice antigénique pour la réalisation de tests sérologiques dans le cadre de ses activités de CNR. Ce virus a été ajouté à la liste des MOT dans l'arrêté du 26 avril 2012. La responsable du CNR Hantavirus-LA (Anne Lavergne) dispose des autorisations de détention, d'acquisition et de mise en œuvre de cet agent pathogène délivrée par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Cette autorisation est valable jusqu'au 5 Avril 2028.

Le laboratoire associé ne dispose pas à l'heure actuelle des autorisations de détention et de mise en œuvre du MOT Laguna Negra (variant Maripa virus). Le laboratoire associé ne peut donc pas réaliser d'essai inter-laboratoires pour la recherche du génome viral. Néanmoins, nous disposons d'un contrôle interne pour les amplifications géniques. Dans le cadre des infections aiguës à hantavirus, les résultats sont basés sur l'analyse conjointe des résultats de sérologie IgM / IgG et des résultats de PCR. Les résultats positifs pour la recherche de l'hantavirus Maripa ont toujours montré une sérologie IgM positive associée à une PCR également positive, ces résultats laissant supposer la validité des approches mises en place.

A l'heure actuelle, dans le cas particulier de détection dans un prélèvement biologique de la présence d'un MOT pour lequel l'IPG ne dispose pas d'une autorisation de détention (ex : RT-PCR temps réel positive pour le virus Maripa), le prélèvement (et tous les aliquots correspondants) font l'objet d'une cession au laboratoire coordonnateur à Paris ou à défaut d'une destruction et ce, dans un délai de 30 jours maximum.

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 Capacités techniques

- **Laboratoire coordonnateur :**

- Isolement viral :

Il est effectué à partir des souches virales de référence, d'isolats ou d'échantillons biologiques sur la lignée cellulaire Vero E6 ou RK13. Les manipulations se déroulent en laboratoire NSB2 (virus Puumala par exemple) ou laboratoire NSB3 (virus Seoul par exemple). L'identification s'effectue par immunofluorescence ou par technique moléculaire. Les isolats obtenus sur cultures cellulaires peuvent être titrés (révélation des foyers infectieux par immunomarquage).

- Sérologie :

Trois techniques sont actuellement utilisées dans le cadre des activités de diagnostic du CNR :

+ ELISA pour la détection des IgM et IgG anti-hantavirus en utilisant des antigènes (Ag) produits à partir de cellules infectées et des immuno-ascites de souris, ou des sérums immuns de hamster, lapin, etc. produits par le CNR. Cette technique est disponible en routine pour rechercher des IgM et IgG anti-virus Puumala, Seoul, Thailand, Laguna Negra et Sin Nombre. Certains réactifs sont fournis par la Special Pathogens Branch du CDC à Atlanta, USA, la souche virale n'étant pas disponible (virus Laguna Negra et Sin Nombre) ou ne pouvant pas être produite actuellement (sérum ou ascite hyper-immuns).

+ Immunofluorescence sur cellules Vero E6 infectées par une souche de référence pour la détection des Ig anti-hantavirus. Cette technique est disponible en routine pour rechercher des anticorps anti-virus Puumala ou Thailand, représentatif des hantavirus zoonotiques de l'Ancien-Monde.

Les hantavirus zoonotiques ont pour réservoir des rongeurs de la sous-famille des Arvicolinae, des Neotominae et des Sigmodontinae (famille des *Cricetidae*) et de la sous-famille des Murinae (famille des *Muridae*). Il existe des relations antigéniques très fortes parmi les hantavirus associés à des rongeurs de la même-sous-famille. En conséquence, une technique sérologique utilisant des antigènes d'un hantavirus A hébergé par une espèce de rongeur permet de détecter des anticorps induits par un autre hantavirus B associé à une autre espèce de rongeur de la même sous famille (et à un titre similaire à celui obtenu avec les antigènes du virus B). Il existe également des réponses sérologiques croisées "inter sous-familles" et même "inter-famille" mais les titres seront plus faibles avec l'antigène hétérologue et au final une perte de sensibilité de la technique sera observée plus les virus sont éloignés.

- Détection de l'ARN viral :

Elle est effectuée par RT-PCR nichée conventionnelle et par RT-PCR en temps réel. Les techniques disponibles pour les activités de diagnostic sont les suivantes :

- RT-PCR temps réel segment S virus Puumala (*Kramski M et al. Clinical Chemistry 2007*),
- RT-PCR nichée segment S des virus associés aux rongeurs de la sous-famille des Arvicolinae (*Bowen MD et al. J Med Virol, 1997, Tatjana Avšič-Županc, pers. Comm.*),

- RT-PCR nichée segment L pour les hantavirus connus jusqu'à présent et associés aux ordres Chiroptera, Rodentia, et Eulipotyphla (*Klempa B et al. Emerg Infect Dis, 2006*).

- **Laboratoire associé :**

- il dispose d'outils sérologiques et moléculaires permettant le diagnostic de première intention des hantavirus du Nouveau Monde. Des techniques sérologiques permettent de détecter des IgM anti-hantavirus par MAC-ELISA et des IgG anti-hantavirus par ELISA indirect (Tableau 15). Les antigènes Sin Nombre et les protéines recombinantes utilisées lors de la réalisation de ces tests sérologiques ont été fournis par la Special Pathogens Branch du CDC à Atlanta, USA.

- la recherche de génome viral (ARN) dans un prélèvement précoce se fait RT-PCR temps réel pour la recherche spécifique du virus Maripa (Matheus et al. 2018). Le laboratoire dispose également d'une RT-PCR nichée conventionnelle pour la recherche d'hantavirus du Nouveau Monde (Johnson AM et al. Virology 1997). Pour les deux techniques de PCR, nous disposons d'un témoin positif (plasmide contenant les amorces et sonde de RT-PCR temps réel et les amorces de RT-PCR nichée conventionnelle).

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 terminé. Les résultats devraient être publiés sur 2024 (cf. § 6.1.1).

Une évaluation indépendante du kit RealStar® Hantavirus-HFRS RT-PCR 1.0 commercialisé par la société Altona Diagnostics permettant une détection qualitative des virus PUUV, SEOV, HTNV et DOBV a été réalisée au cours du troisième trimestre 2023 (cf. § 6.1.2).

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Deux demandes de transfert de technique (biologie moléculaire) ont été exprimées auprès du laboratoire coordonnateur par l'unité de Virologie de l'Institut Pasteur de Guinée et le laboratoire de Biologie médicale du Centre Hospitalier de Mayotte.

2.4 Matériel biologique transféré vers d'autres laboratoires

Le laboratoire coordonnateur a transféré à l'unité de Virologie de l'Institut Pasteur de Guinée les modes opératoires de RT-PCR temps réel SEOV (virus Seoul) segment S et RT-PCR temps réel THAIV (virus Thailand) segment S ainsi qu'un ARN témoin positif (transcrit synthétique quantifié) du virus Seoul et un extrait ARN témoin positif issu d'un stock viral du virus Thailand afin de pouvoir évaluer la limite de détection des techniques mises en place. Il est programmé d'utiliser cette technique dans le cadre d'activités de recherche (Dr Solène Grayo).

Le laboratoire coordonnateur a transféré au Laboratoire de Biologie médicale du Centre Hospitalier de Mayotte, ces mêmes modes opératoires (RT-PCR temps réel SEOV et THAIV) et témoins positifs pour une utilisation dans le cadre des activités de diagnostic (Dr Louis Collet). La volonté était d'associer la détection des hantavirus Seoul et Thailand à celle de la leptospirose par RT-PCR multiplex.

2.5 Activités d'expertise proprement dite

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'examen 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).

Fin 2023, ces laboratoires étaient au nombre de quatorze. Dix 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, permettant de détecter les anticorps IgM et IgG dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien Monde (le CH de Charleville-Mézières utilise également le test rapide). Enfin un dernier laboratoire utilise un test IF permettant de détecter les anticorps IgM et IgG 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, fin 2023.

Laboratoires	Trousses de diagnostic sérologique Hantavirus
Besançon CHRU (25)	Reagentia POC Puumala IgM
Cerba (95)	Euroimmun Pool 1 Eurasia ELISA IgM et IgG
Charleville-Mézières CH (08)	Reagentia Reascan+ Puumala IgM et Euroimmun Pool 1 Eurasia ELISA IgM et IgG
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 IgM et IgG
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

Le laboratoire coordonnateur a reçu en 2023, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 161 échantillons (sérums ou plasmas) provenant de 145 patients. **Un total de 128 prélèvements (79,5%) a été reçu de ces laboratoires. La répartition par laboratoire est indiquée au § 3.1.** Le CNR a reçu 33 prélèvements (20,5%) pour un diagnostic en première ligne dont 21 pour une recherche d'hantavirus par PCR.

En 2023, le délai moyen de restitution des résultats a été de 8,4 jours par rapport à la date de réception au laboratoire (seulement 1% des résultats ont été transmis hors délais). La fiche de renseignements cliniques, biologiques et épidémiologique était disponible pour 88% des cas suspects et 90% des cas confirmés.

Activité d'expertise proprement dite: confirmation de diagnostic

Techniques commerciales ELISA ou IF IgG anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 80,4% pour les 97 prélèvements testés par les laboratoires utilisant les trousse commerciales ELISA ou IF et dont les résultats étaient disponibles (0 résultat indisponible, 1 non testé), avec un accord fort entre les techniques commerciales et celle du CNR (coefficient de Kappa: 0,69 ; IC 95% : [0,55-0,83]. Ce pourcentage est légèrement supérieur à celui mesuré l'an dernier avec un coefficient de kappa identique. 11,3% soit 11 des prélèvements avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 2).

L'analyse des 9 cas discordants « NEG CNR-POS LABO » montre pour 6 cas un défaut de spécificité des techniques commerciales (IF et ELISA). Il n'a pas été possible de conclure pour les 3 autres, faute de sérum tardif de contrôle. L'analyse des 2 cas discordants « POS CNR-NEG LABO » montre un défaut de sensibilité des tests commerciaux pour un cas (cas IRPUUV) et semble en faveur d'un défaut de spécificité du test ELISA du CNR pour l'autre cas (le résultat du test IF du CNR était négatif).

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

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	36 (1)	1 (0,5)	2 (0)	39
Limite	6 (0,5)	2 (1)	0 (0,5)	8
Positif	9 (0)	1 (0,5)	40 (1)	50
Total	51	4	42	97

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Techniques commerciales ELISA ou IF IgM anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 53,6% pour les 97 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales ELISA ou IF et dont les résultats étaient disponibles (1 non testé et 0 résultat indisponible), avec un accord très faible entre les techniques commerciales et celle du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,20 ; IC 95% : [0,0-0,41]). Ce pourcentage et le coefficient kappa sont identiques à ceux de 2022 mais en nette diminution par rapport à ceux observés en 2021. 26,8% soit 26 des prélèvements avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 3).

L'analyse de ces 26 cas discordants « NEG CNR-POS LABO » montre un défaut de spécificité des tests commerciaux pour 13 cas mais il n'a pas été possible de conclure pour les 13 autres cas, faute de sérum tardif de contrôle.

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

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	7 (1)	4 (0,5)	0 (0)	11
Limite	3 (0,5)	0 (1)	1 (0,5)	4
Positif	26 (0)	11 (0,5)	45 (1)	82
Total	36	15	46	97

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Techniques commerciales tests rapides PUUV IgM

La concordance de résultats était de 90,0% pour les 30 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales, avec un accord très fort entre les techniques commerciales et celle du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,83 ; IC 95% : [0,60-1,06]). Un prélèvement avait une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 4). Ces résultats sont nettement meilleurs que ceux observés en 2022 et en accord avec les deux années précédentes (2021 et 2020)

L'analyse du cas discordant « NEG CNR - POS LABO -» ne permet pas de conclure sur un défaut de sensibilité ou de spécificité d'un des tests, faute de sérum tardif de contrôle. A noter toutefois que le test rapide utilisé, Reagena POC Puumala IgM, montrait un résultat faiblement positif chez un patient présentant des IgM et IgG anti-CMV.

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)	0 (0,5)	0 (0)	7
Limite	0 (0,5)	0 (1)	1 (0,5)	1
Positif	1 (0)	1 (0,5)	20 (1)	22
Total	8	1	21	30

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Les discordances ont concerné essentiellement des résultats positifs des tests commerciaux et des résultats négatifs du CNR. Etant donné la faible prévalence de la maladie cette année chez les cas suspects, le défaut de spécificité des tests commerciaux a été accentué et leur valeur prédictive positive a vraisemblablement été diminué.

Le laboratoire associé a reçu en 2023, 33 échantillons biologiques provenant de 32 patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde (Tableau 6). Le nombre de demandes de diagnostic hantavirus est en diminution par rapport à l'année 2022 (année où 4 cas d'hantavirus avaient été rapportés).

2.6 Activités de séquençage

En 2023, le laboratoire coordonnateur a poursuivi les activités de séquençage des souches détectées en France métropolitaine chez des patients entre 2017 et 2022 (activités qui avaient été interrompues entre 2017 et 2021). Sur cette période, ce sont 779 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus dont 524 cas confirmés d'infection récente par le virus Puumala et 4 par le virus Seoul. En 2023, nous avons analysé 66 échantillons et obtenu par séquençage Sanger du domaine codant du segment S (séquençage de 3 amplicons chevauchants obtenus par RT-PCR nichée conventionnelle), seulement 6 séquences complètes et 10 séquences partielles. Les 16 isolats obtenus provenaient des traditionnels départements de la zone d'endémie connue [l'Aisne (02), les Ardennes (08), le Nord (59), le Jura (39) et le Doubs (25)].

Comme observé lors de l'étude couvrant la période 2012-2016 (Reynes JM et al. Emerg Infect Dis 2019) et pour les 21 séquences des souches PUUV obtenues en 2022, les 16 souches séquencées en 2023 appartiennent toutes à la lignée d'Europe Centrale (CE) et se répartissent au sein de 2 sous-lignées (Q64 et R64) et de 2 clusters phylogénétiques distincts en fonction de leur origine géographique : les souches Q64 et Q258 retrouvées dans le Nord et Nord-Est et les souches R64 et Q258 retrouvées dans le Sud de la zone d'endémie. Il existe un 3^{ème} cluster phylogénétique regroupant les souches R64 et K258 retrouvées dans la partie Ouest de la zone d'endémie (regroupant la région de la Sologne [Cher (18), Loir-et-Cher (41) et Loiret (45)] et du Morvan [Nièvre (58) et Saône-et-Loire (71)]) (cf. Reynes JM et al. Emerg

Infect Dis 2019 pour la description de la lignée et des sous-lignées circulant en France métropolitaine). Aucune des 16 souches séquencées en 2023 ne provenait de ces départements et aucune ne se positionnait dans ce cluster.

Le laboratoire coordinateur a également tenté de séquencer par métagénomique une souche du virus Tula détectée chez un patient âgé de 12 ans, résidant dans le département de la Côte-d'Or (21). L'analyse de l'échantillon a permis d'acquérir uniquement une séquence courte de 383 nt du segment S.(cf 3.2). Nous avons également tenté de séquencer par métagénomique une souche du virus Tula détectée chez un patient en 2015 (premier cas humain d'infection par le virus Tula détecté en France). Si la séquence codante complète du segment S avait été obtenue par Sanger en 2015, le séquençage par métagénomique a permis de confirmer la séquence du segment S (identité nucléotidique de 100% avec Sanger) et d'acquérir très partiellement les segments M et L. Le développement d'une approche AmpliSeq TULV devrait permettre d'être plus sensible sur des échantillons humains de charge virale faible.

Les deux souches détectées chez des patients en 2015 et 2023 partagent un pourcentage d'identité nucléotidique sur 383 nt du segment S de 94,48%.

En 2023, aucune activité de séquençage n'a été effectuée par le Laboratoire associé, aucun cas n'ayant été identifié.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Externe au CNR ; accès au Pôle de Génotypage des pathogènes (PGP) de l'unité ERI
	Séquençage Sanger et NGS (Illumina MiSeq et NextSeq, Oxford nanopore Minion mk1c)

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Externe au CNR (PGP au sein unité ERI) ; 1/Expertise bio-informatique sollicitée pour l'analyse des données de séquences NGS, 2/autonomie d'analyse pour les données issues du séquençage Sanger).
	CLC Main Workbench et accès au serveur de calcul de l'Institut Pasteur

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

<input type="checkbox"/> NON	Si NON, est-ce prévu ? A quelle échéance ?
<input checked="" type="checkbox"/> OUI	Investigations intervenues dans le cadre de la surveillance

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Séquençage de souches virales par Sanger ou NGS. Dans le cadre du NGS, les approches utilisées pour l'acquisition des données de séquences peuvent se faire de façon spécifique (AmpliSeq) ou par métagénomique shotgun. Génération de séquences consensus pour analyses phylogénétiques (épidémiologie moléculaire). Le séquençage vient en complément des tests de diagnostic sérologiques et moléculaires.

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

/

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Nombre de souches séquencées dans l'année : (16 sanger et 7 NGS AmpliSeq et méta)

Pour le virus Puumala, séquençage en priorité des souches détectées dans les départements d'extension de la zone d'endémie + sélection annuelle de prélèvements sur l'ensemble de la zone d'endémie répondant aux critères suivant : charge virale «suffisante » (Ct<33), volume suffisant en biothèque et non opposition du patient à l'utilisation secondaire de son(s) prélèvement(s) et données associées, à des fins de recherche et dans le cadre de la pathologie pour laquelle il consulte.

Depuis 2022, séquençage systématique de tout autre hantavirus détecté (Seoul, Tula,...)

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : **Non**

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadata associées : **GenBank et SRA (métadonnées peuvent être associées)**

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

Le CNR reçoit des prélèvements primaires de laboratoires privés ou hospitaliers (essentiellement plasmas et sérums). Le CNR ne reçoit pas directement de souches pour séquençage.

Les séquences des souches sont mises à la disposition de la communauté scientifique via un enregistrement dans GenBank. Les données brutes de séquençage haut débit (NGS) sont également déposées dans la base de données SRA (Short Read Archive).

3. Activités de surveillance

- une année inter-épidémique en France métropolitaine avec seulement 50 cas humains d'infection récente par un hantavirus détectés (74% dans l'Avesnois (partie sud du département du Nord (59), les départements de l'Aisne (02) et des Ardennes (08), foyers traditionnels d'endémie).
- dont un cas humain d'infection récente par le virus Tula dans le département de la Côte-d'or (21)
- aucun cas humain d'infection par l'hantavirus Maripa détecté en Guyane

3.1 Description du réseau de partenaires

France Métropolitaine (laboratoire coordonnateur)

- Réseau de partenaires :

Depuis le 1^{er} janvier 2023, le laboratoire coordonnateur reçoit principalement des prélèvements pour un diagnostic de deuxième intention (diagnostic de confirmation). Ces derniers sont expédiés par les laboratoires partenaires effectuant un diagnostic de première intention (cf. 2.5). Fin 2023, ces laboratoires étaient au nombre de quatorze, comme en 2022 (Figure 2).

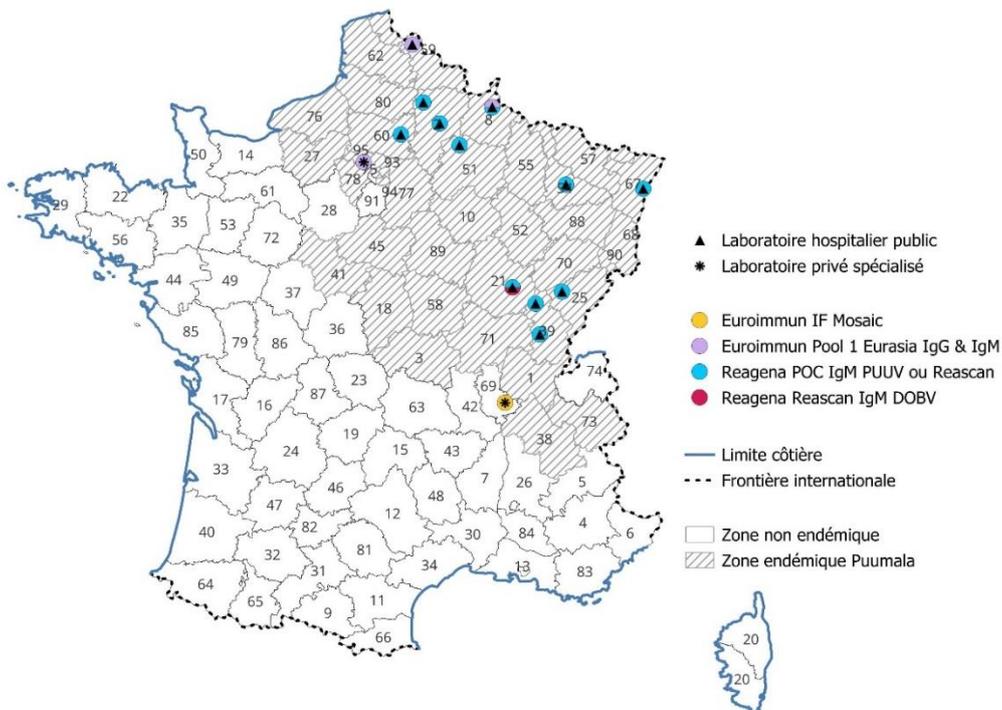


Figure 2 : Répartition des 14 laboratoires du réseau en France métropolitaine (en hachuré, les départements où des cas d'infection par PUUV ont été détectés sur la période 2012-2022). Figure sur la carte la référence du test sérologique proposée par chaque laboratoire.

- Prélèvements réceptionnés:

Le laboratoire coordonnateur a reçu en 2023, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 161 échantillons (sérums ou plasmas) provenant de 145 patients. Un total de 129 prélèvements (80,1%) a été adressé par les laboratoires partenaires pour un diagnostic de 2^{ème} intention (Tableau 5).

Diagnostic	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 2 ^{ème} intention = confirmation (n = 129)	Auv - Rhône-Alpes	Laboratoire Eurofins Biomnis (69)	7
		CHU Dijon (21)	3
	Bourgogne – Franche-Comté	CHRU de Besançon (25)	4
		CH Dole (39)	0
		CH Saint-Claude/Lons-le-Saunier (39)	0
		CH de Charleville-Mézières (08)	3
	Grand-Est	CHU de Reims (51)	3
		CHRU Nancy (54)	4
		CHRU Strasbourg (67)	3
		CH de Laon (02)	8
	Hauts-de-France	CH de Saint Quentin (02)	2
		CHRU de Lille (59)	37
		CHIC Compiègne-Noyon (60)	3
Ile-de-France	Laboratoire Cerba (95)	52	
de 1 ^{ère} intention (n = 32)	Auvergne – Rhône-Alpes	CH Alpes-Leman (74)	1
	Bretagne	CHU Rennes (35)	1
	Bourgogne-Franche-Comté	CH William Morey (71)	3
	Centre – Val de Loire	CHR Orléans (45)	2
	Hauts-de-France	CH de Saint Quentin (02)	1
		CH Beauvais (60)	1
		CH Valenciennes (59)	1
		CHU Amiens (80)	1
	Ile-de-France	Hôpital Bichat-Claude-Bernard (75)	1
		Hôpital Cochin (75)	1
		Hôpital Saint Antoine (75)	2
		Hôpital Tenon (75)	2
		GHSIF CH Melun (77)	2
		Hôpital Ambroise Paré (92)	2
		Hôpital Raymond Poincaré (92)	1
		Hôpital Foch (92)	1
		Hôpital Avicenne (93)	1
		Hôpital Bicêtre – Le Kremlin B. (94)	1
	CHIC Créteil (94)	1	
	Normandie	CHU Caen (14)	1
CH le Havre (76)		2	
IFB CHU Toulouse (31)		1	
Provence – Alpes – Côte d'Azur	CHIC Toulon (83)	1	
Réunion	CHU GH Sud Réunion (974)	1	

Tableau 5 : Origine des prélèvements reçus par le laboratoire coordonnateur

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 1^{ère} 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 émergent 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 2023, le laboratoire associé a reçu 33 échantillons biologiques provenant de 32 patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde (Tableau 6). Le nombre de demandes de diagnostic hantavirus a diminué par rapport à l'année 2022.

La majorité des demandes de diagnostic provenaient du Centre Hospitalier de Cayenne (CHC). Deux prélèvements provenaient du Centre Hospitalier de l'Ouest Guyanais et deux prélèvements appartenant à un même patient provenaient du CHU de Martinique. Les prélèvements du CHC proviennent de différents services: 39,4% (13/33) du service de réanimation, 18,2% (6/33) du service des maladies infectieuses, 12,1% (4/33) de la permanence d'accès au soin de santé, 6% (2/33) du service des urgences et 12,1% (4/33) du service de pédiatrie, de gynécologie, de dermatologie et de Médecine B.

Tableau 6 : Origine des prélèvements adressés au laboratoire associé en 2022.

Origine	Guyane	Martinique	Guadeloupe	Total
Secteur hospitalier	31	2	0	33
Centre de santé	0	0	0	0
Secteur privé	0	0	0	0
Total	31	2	0	33

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 Sin Nombre (SNV) et IgG anti-PUUV, THAIV, et SNV + IF Ig anti-PUUV et THAIV]; le choix des antigènes testés dépendant du lieu d'exposition des patients.

Le laboratoire coordonnateur a également recherché l'ARN de PUUV, du virus Seoul (SEOV), ou d'hantavirus en cas de demande expresse ou sur certains prélèvements ciblés dans le cadre de la surveillance. Au total, 1 231 examens ont été effectués sur les 161 prélèvements testés (Tableau 7).

Sur la base des résultats de ces examens, les 145 cas suspects ont été classés dans les catégories suivantes:

- **33 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).**

- **1 cas d'infection récente par le virus Tula, confirmé virologiquement (détection de l'ARN de TULV par RT-PCR nichée ciblant les virus associés aux rongeurs de la sous-famille des Arvicolinae puis identification par analyse de la séquence).**
- **16 cas d'infection récente par un hantavirus, confirmés sérologiquement (présence d'IgM et d'IgG anti-hantavirus).**
- 0 cas probable d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus uniquement détectées par ELISA et confirmée par IF)
- 1 cas possibles d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 4 cas d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus uniquement, détectés par ELISA et confirmé par IF).
- 2 cas possible d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 51 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)
- 37 cas avec un statut indéterminé (n'entrant pas dans les catégories précédentes)

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	161
	THAIV	161
ELISA IgM	PUUV	161
	THAIV	161
	SNV	6
ELISA IgG	PUUV	161
	THAIV	161
	SNV	6
RT-PCR temps réel	PUUV	105
	SEOV	4
RT-PCR nichée	Hantavirus Arvicolinae	72
	Hantavirus	72
TOTAL		1 231

¹ Tous les examens n'ont pas été effectués sur les 161 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 L'antigène THAIV est utilisé pour détecter les anticorps anti-virus Seoul (SEOV), Dobrava-Belgrade (DOBV) ou Hantaan (HTNV) avec la même efficacité que les antigènes SEOV, DOBV ou HTNV. Il a l'avantage de ne pas être classé dans les « MOT », ce qui allège la mise en œuvre des techniques.

Au final, 50 cas ont été considérés comme des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus [CCIRH] (34 virologiquement et 16 sérologiquement). Il n'y a pas eu de patient résidant en France ou à l'étranger, exposés à l'étranger. Il n'y a pas eu de patient détecté en 2023, prélevé en 2022 (et comptabilisé dans les cas de 2022).

La médiane d'âge des 50 CCIRH est de 45,0 ans (de 12 à 77 ans) et est conforme à celles observées depuis 2012 (Tableau 8). Le sexe-ratio (M/F) de 3,5 (39 hommes et 11

femmes) est parmi les plus bas sur cette période (Tableau 8).

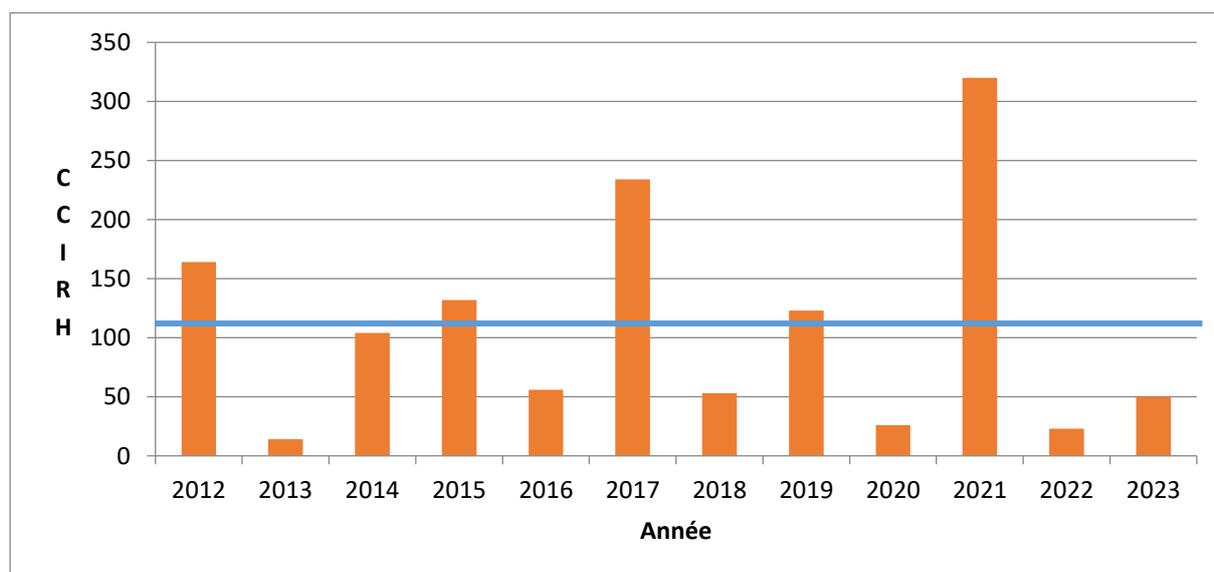
Tableau 8 : Sexe-ratio et âge médian des CCIRH résidant et exposés en France métropolitaine

Année (de prélèvement)	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
No.de cas	164	14	104	132	56	234	53	122*	27*	321	23	50
Age médian	42	48,0	38,5	39,0	39,0	40,0	43,0	40,0	40,0	41,5	42,0	45,0
Sexe-ratio	3,3	2,5	4,2	2,7	2,3	2,5	2,1	5,1	25,0	2,2	2,0	3,5

* 4 cas parmi les 126 détectés en 2019 sont prélevés en 2018 et un cas parmi les 27 détectés en 2020 est prélevé en 2019

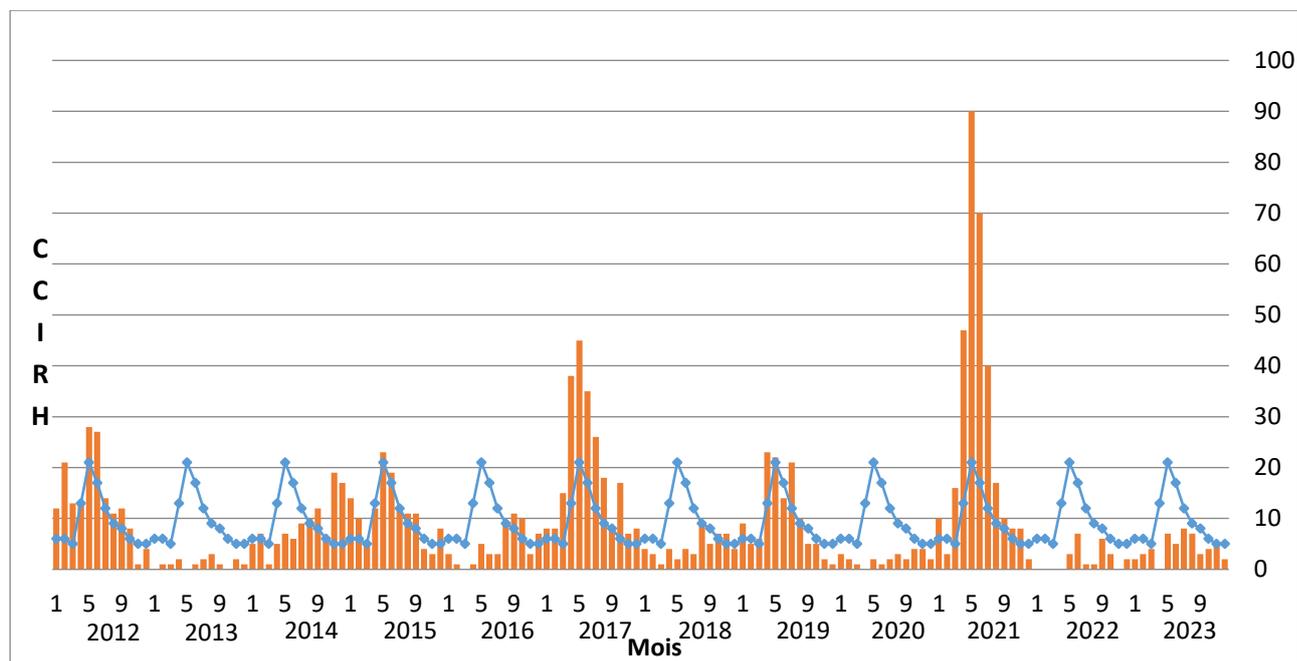
Le nombre de CCIRH détecté en 2023 se trouve bien en deçà de la moyenne (trait bleu) de cas détectés (114 cas) sur la période 2012-2022 (Figure 3). Sur cette période, nous observons des années dites « épidémiques » tous les deux à trois ans, séparées par des périodes inter-épidémiques. Ces variations d'incidence sont bien connues et 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. L'année 2023 apparaît donc comme une année inter-épidémique.

Figure 3 : Distribution annuelle des cas confirmés d'infection par un hantavirus en France métropolitaine, 2012-2023 sur la base de la date du prélèvement du patient (le trait bleu représente la moyenne sur la période 2012-2022).



Malgré le faible nombre de cas, le pic principal de détection habituellement retrouvé à la fin du printemps est observé en 2023 ainsi qu'un léger pic secondaire à la fin de l'été (Figure 4).

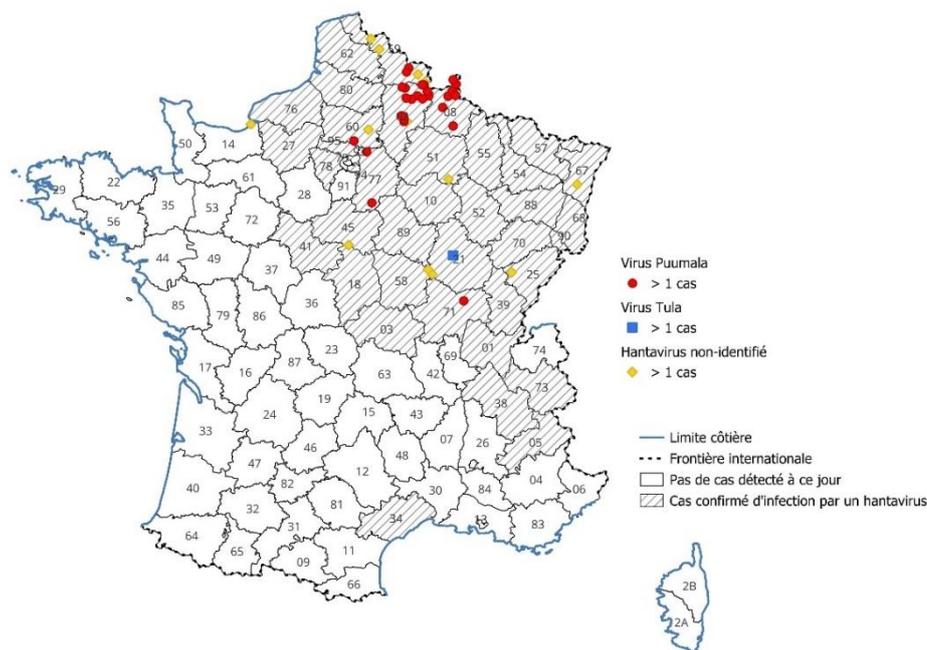
Figure 4 : Distribution mensuelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (CCIRH) en France métropolitaine Janvier 2012 – Décembre 2023 (sur la base de la date de prélèvement du patient ; la courbe bleue indique la moyenne mensuelle de cas détectés pour la période 2012-2022)



La distribution géographique selon les départements des 50 CCIRH résidant en France métropolitaine est présentée sur la Figure 5. Les données se fondent d'abord 1/ sur la commune de résidence du patient (n=44), ou 2/ sur une commune différente de la commune de résidence, indiquée comme lieu d'exposition (n=6). Il n'y a pas eu d'extension de la zone d'endémie (cas d'infection par PUUV). L'Avesnois (region sud du département du Nord (59), les départements de l'Aisne (02) et des Ardennes (08), foyers traditionnels d'endémie, ont concerné 74% des cas (Figure 5, Tableau 9).

Le cas détecté hors de la zone d'endémie, dans le département du Calvados (14), est un cas d'infection récente par un hantavirus non-identifié, avec toutefois une réponse sérologique en faveur d'une infection par le virus Seoul ou un virus proche. Les prélèvements à notre disposition n'ont pas permis une recherche du virus par biologie moléculaire (échantillons prélevés trop à distance du début de la maladie). Le patient évoque un probable contact avec des excréments de rongeurs suite à l'achat d'une boisson en canette dans une boulangerie de Deauville.

Figure 5 : Distribution spatiale des 50 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus détectés en France métropolitaine en 2023 (en hachuré, les départements où des cas d'infection par hantavirus ont été détectés sur la période 2012-2022).



Les cas d'infection par le virus Tula (TULV) sont très rares et font l'objet d'une alerte.

La détection de la souche a été possible grâce à la RT-PCR nichée *Arvicolinae* (détection également de la souche avec la RT-PCR nichée pan-hantavirus). Il s'agit du 2^{ème} patient infecté par TULV que nous diagnostiquons depuis la mise en place de la détection moléculaire en 2012.

Le patient concerné est un garçon âgé de 12 ans résidant dans le département de la Côte-d'Or (21). Il présentait un syndrome fébrile algique avec thrombopénie et atteinte de la fonction hépatique, sans atteinte rénale, ni pulmonaire. La contamination a vraisemblablement eu lieu au cours d'une morsure par un rongeur au sein de la ferme des parents du jeune garçon. Les séquences partielles obtenues par séquençage Sanger (amplicon RT-PCR *arvicolinae*) et par métagénomique couvrent deux régions distinctes du segment S et présentent, respectivement, une identité de séquence nucléotidique de 95 et 90% avec la souche détectée en 2015 chez un patient résidant à 60 km à l'Est de Paris. L'acquisition au moins de la séquence complète du segment S pour cette souche détectée en Côte-d'Or en 2023 permettra une analyse phylogénétique plus fine.

Jusqu'à présent seulement 3 cas humains d'infection par le virus Tula ont été confirmés virologiquement: le premier en République Tchèque en 2013 (Zelena et al., 2013), le second en France en 2015 (Reynes et al., 2015) et le troisième en Allemagne en 2021 (Hofmann et al., 2021). Ces cas présentaient un syndrome rénal et pulmonaire. Le présent cas constitue donc le deuxième cas humain d'infection confirmé virologiquement en France et le quatrième en Europe. Ce cas fera l'objet d'une publication.

Le prélèvement nous avait été transmis par le laboratoire de virologie du CHU de Dijon pour confirmation du résultat positif en sérologie (test rapide IgM anti-puumala positif et test rapide IgM anti-DOBV/HTNV négatif). L'ajout de techniques moléculaires dans nos diagnostics permet de révéler la diversité des hantavirus responsables des infections humaines et de ne pas attribuer par défaut toutes les infections au virus Puumala.

En 2023, aucun cas d'infection par le virus Maripa n'a été détecté. 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 3,48 jours par rapport à la date de réception au laboratoire.

Tableau 10 : Bilan des résultats de diagnostic d'infection par un hantavirus, 2012 – 2023.

Année	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Echantillons reçus	15	35	14	15	15	19	18	23	16	44	53	33
RT-PCR positive	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	5	0
IgM anti-SNV positive	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	5	0
IgG anti-SNV positive	NT*	NT	0	2	2	0	2	0	1	0	3	0
Cas aigus détectés	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	4	0

* NT = non testé

Tableau 9: Distribution spatio-temporelle (sur la base de la date de prélèvement) de cas confirmés d'infection récente par un hantavirus, 2023, France métropolitaine (départements avec cas détectés sur la période 2003-2023) :

Région	Département	2018		2019		2020		2021		2022		2023													
		Total	Incid. †	Total	Incid. †	Total	Incid. †	Total	Incid. †	Total	Incid. †	Population municipale ‡	janvier	février	mars	avril	mai	juin	juillet	août	septembre	octobre	novembre	décembre	Total
Hauts-de-France	02	16	3	31	5,83	6	1,13	20	3,8	1	1,91	522 791	0	2	1		1	2	1	3	1	2	0	0	13
	59	17	0,65	20	0,77	5	0,19	22	0,84	9	3,76	2 606 646	1	0	1	0	2	1	1	2	0	1	3	0	12
	60	3	0,36	7	0,84	0	0	9	1,08	1	0,12	833 259	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
	62	3	0,2	1	0,07	1	0,07	1	0,07	2	0,14	1 453 934	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	80	0	0	0	0	1	0,18	0	0	0	0	564 067	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grand-Est	08	5	1,84	16	5,91	4	1,48	20	7,46	1	0,37	265 417	0	1	0	0	3	2	3	0	0	1	1	1	12
	10	0	0	0	0	0	0	1	0,32	0	0	312 713	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	51	2	0,35	3	0,53	1	0,18	1	0,18	0	0	564 108	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	167 544	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	54	1	0,14	1	0,14	0	0	1	0,14	0	0	729 477	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	55	0	0	3	1,63	0	0	0	0	0	0	178 010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	57	0	0	1	0,1	0	0	2	0,19	0	0	1 051 456	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	67	0	0	2	0,18	0	0	2	0,17	1	0,09	1 168 422	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	68	0	0	1	0,13	0	0	2	0,26	1	0,13	769 231	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	88	0	0	1	0,27	0	0	4	1,11	0	0	355 884	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Normandie	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	700 595	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	27	0	0	1	0,17	0	0	0	0	0	0	596 710	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	76	0	0	0	0	0	0	1	0,08	0	0	1 254 204	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ile-de-France	75	1*	0,05	0	0	1*	0,05	1	0,05	1	0,05	2 102 650	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	77	0	0	3	0,21	0	0	0	0	1	0,07	1 452 775	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
	78	0	0	0	0	0	0	1	0,07	0	0	1 461 524	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	92	0	0	1	0,06	1	0,06	0	0	1	0,06	1 642 002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	93	0	0	0	0	0	0	1	0,06	0	0	1 682 806	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	94	2	0,14	1	0,07	0	0	1	0,07	0	0	1 426 748	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	95	0	0	2	0,16	1	0,08	0	0	0	0	1 274 374	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Centre Val-de-Loire	18	0	0	0	0	0	0	1	0,33	0	0	297 274	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	326 465	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	45	0	0	4	0,59	0	0	0	0	0	0	686 615	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Bourgogne-Franche-Comté	21	0	0	4	0,75	0	0	5	0,93	1	0,19	536 166	0	0	0	0	0	0	0	0	1**	0	0	0	1
	25	1	0,18	8	1,47	0	0	71	12,99	1	0,18	550 112	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	39	1	0,38	4	1,54	3	1,16	134	51,94	1	0,39	256 814	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	58	0	0	1	0,49	0	0	1	0,5	0	0	197 857	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
	70	0	0	3	1,27	0	0	4	1,71	0	0	231 773	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	71	0	0	1	0,18	0	0	3	0,55	0	0	547 362	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	89	0	0	3	0,89	0	0	2	0,6	0	0	329 321	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	90	0	0	0	0	0	0	5	3,6	0	0	136 891	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Auvergne - Rhône-Alpes	01	0	0	0	0	0	0	1	0,15	0	0	671 937	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	1	0,3	0	0	0	0	0	0	332 443	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	38	0	0	0	0	0	0	1	0,08	0	0	1 294 476	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	73	1	0,23	0	0	2	0,45	2	0,45	0	0	447 797	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Occitanie	34	0	0	0	0	0	0	0	0	1*	0,08	1 232 805	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Provence-A-C A	05	0	0	0	0	0	0	1	0,71	0	0	139 942	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		53	0,16	124	0,38	26	0,08	321	0,99	23	0,07	32 652 802	2	3	4	0	7	5	8	7	3	4	5	2	50

† Incid. = Incidence pour 100 000 habitants (calculée suivant la population de l'année concernée); * Cas d'infection récente par le virus Seoul ;** Cas d'infection par le virus Tula ‡ Source : INSEE - <https://www.insee.fr/fr/statistiques/1893198#consulter>

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes 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 1er 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 zoonotiques, vectorielles, 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,
- et depuis août 2023, au laboratoire Anses de la rage et de la faune sauvage de Nancy qui est spécialisé dans l'épidémiologie des virus de la faune sauvage dont coronavirus et hantavirus.

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 dans le cadre des alertes (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 (cf. § 4).

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 des virus respiratoires, et CNR Rage) ainsi que la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) de l'Institut Pasteur en sont membres. Laurent Dacheux, responsable adjoint de la CIBU est le point focal de l'Institut Pasteur pour ce réseau.

Le CNR des Hantavirus transmet annuellement les données de surveillance à de l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) à Stockholm en Suède (<http://www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>) 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).

L'Institut Pasteur à Paris est membre de l'association Pasteur Network et à ce titre, le CNR des Hantavirus collabore avec certains Instituts de ce réseau dans le cadre du diagnostic et de l'épidémiologie des infections par hantavirus, en particulier avec 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

Chaque année, le CNR s'intéresse à l'origine géographique et au nombre de patients résidant en métropole prélevés pour un diagnostic de 1ère 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.

Le nombre de demandes de diagnostic pour des patients résidant sur le territoire métropolitain en 2023 est très légèrement supérieure à la moyenne observée sur la période 2012-2022 (1725 demandes). En revanche, le nombre de cas détecté demeure faible et par conséquent le pourcentage de cas confirmés est du même ordre que ceux observés pour les années inter-épidémiques (2013, 2016, 2018, 2020, 2022) (Tableau 11).

Les demandes restent les plus abondantes au cours de l'été. Le pic estival du pourcentage de CCIRH parmi les patients prélevés est observé en 2023 comme c'est le cas lors des années épidémiques (2012, 2015, 2017, 2019 et 2021) (Figure 6). Il existe toujours une disparité géographique des demandes. Le pourcentage de patients prélevés en zone d'endémie de PUUV reste très élevé, le plus faible observé étant en 2012 quand l'alerte lancée par les autorités américaines concernant le virus Sin Nombre a provoqué une demande accrue de diagnostic à l'automne et en partie dans la zone de non endémie (Tableau 11; Figure 7).

Tableau 11 : Caractéristiques des patients prélevés en France métropolitaine pour un diagnostic d'hantavirose 2012-2023.

Année	Nombre de patients prélevés	% de cas confirmés (effectif)	% de patients prélevés en zone d'endémie* (n/N)
2012	1 869	8,8 (164)	81,5% (1 148 / 1 408)
2013	1 120	1,3 (14)	82,2% (921 / 1 120)
2014	1 618	6,4 (104)	85,3% (1 376 / 1 614)
2015	1 725	7,7 (132)	88,9% (1 533 / 1 725)
2016	1 550	3,6 (56)	88,9% (1 356 / 1 525)
2017	1 944	12,0 (233)	87,7% (1 703 / 1 941)
2018	1 637	3,2 (53)	87,6% (1 433 / 1 636)
2019	1 885	6,5 (123)	86,4% (1 622 / 1 878)
2020	1 361	1,9 (26)	84,3% (1 148 / 1 361)
2021	2 569	12,5 (321)	88,0% (2 257 / 2 566°)
2022	1 699	1,4 (23)	84,4% (1 419/1 682)
2023	1836	2,7 (50)	86,3% (1457/1689)

* le département d'origine n'est pas connu pour 461 cas en 2012, 4 en 2014, 25 en 2016, 3 cas en 2017, 1 en 2018, 7 en 2019, 3 en 2021, 17 en 2022, et 147 en 2023.

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 2012 – 2023.

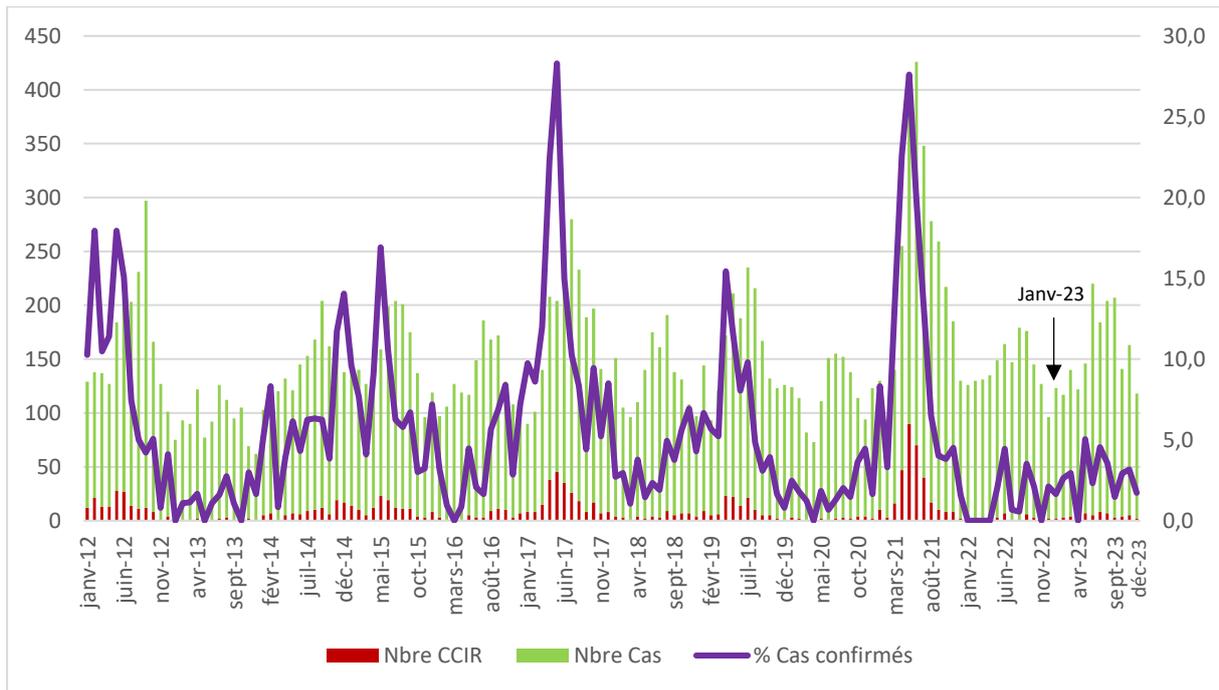
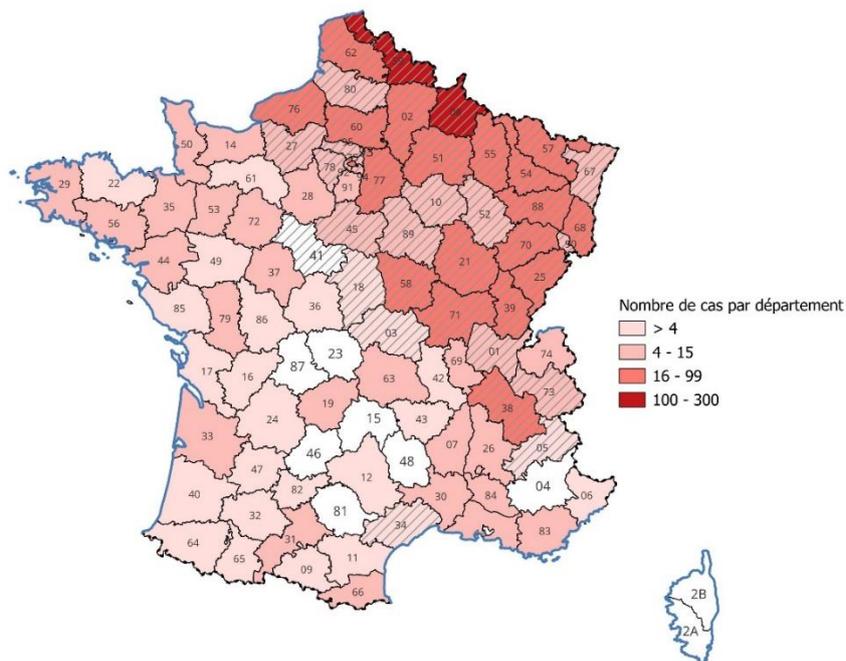


Figure 7 : Distribution spatiale en 2023 des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus en France métropolitaine et par département (gradient de couleur par département). La distribution se fonde sur le département du lieu de prélèvement ou sur celui du laboratoire transmetteur si le premier n'est pas connu ; en hachuré, les départements où des cas confirmés d'infection par hantavirus ont été détectés de 2012 à 2022.



4. Alertes

Au besoin, des alertes sont émises par email auprès de nos interlocuteurs de l'unité des Infections zoonotiques, vectorielles, 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.

- **Laboratoire coordonnateur**

Le cas rare d'infection aiguë par le virus Tula a été notifié à SpF en Septembre 2023 ainsi qu'aux laboratoires partenaires effectuant un diagnostic de première intention.

- **Laboratoire associé**

Aucune alerte n'a été émise en 2023.

5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Liste des formations aux professionnels de santé :

- Présentation portant sur "l'Epidémiologie des Hantavirus" (2 heures) au personnel médical du Centre Médical de l'Institut Pasteur (CMIP) le 07/12/2023.
- Cours sur les hantavirus (1 heure) aux internes de l'Unité des Maladies Infectieuses et Tropicales du Centre Hospitalier de Cayenne le 02/03/2023 et le 28/09/2023.

Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques :

Le CNR des Hantavirus qui est hébergé par l'unité de recherche et d'expertise « Environnement et Risque Infectieux » est tributaire du nombre d'équivalent temps plein (ETP) alloué à l'unité (pour tout stage d'une durée supérieure à 4 mois) et/ou à la place physique disponible dans ses locaux. Le CNR, qui a accueilli une étudiante en 2^{ème} année de DUT Génie Biologique de l'Université Paris-Est Créteil Val-de-Marne (UPEC) en 2022, n'a pas eu la possibilité d'accueillir un stagiaire en 2023.

Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion) :

/

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

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 2022 y sont actuellement disponibles. Le nombre de pages consultées est de 7625 en 2023, en légère hausse comparé à 2022 avec 6449 pages consultées. Toutefois, on note une diminution du nombre de consultations sur ces deux dernières années (16 017 consultations en 2020, 11 085 en 2021), mise pour partie sur le compte de la mise en place du consentement aux cookies à la mi-2021. 86% des consultations en 2023 ont concerné la page « La maladie –Recommandations » (pourcentage du même ordre que ceux des années précédentes).

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 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 8 prestations de conseil par téléphone, email ou courrier :

- il a été sollicité en pré-analytique par des médecins pour savoir si une suspicion d'infection par un hantavirus pour un patient et une demande d'examen étaient justifiées (n=3), la conduite à tenir suite à une exposition à des rongeurs (morsures, manipulation) (n=1). Les sollicitations reçues pour préciser les conditions pré-analytiques des demandes d'examens ne sont pas comptabilisées : il est proposé systématiquement de consulter nos recommandations en ligne sur le site Web du CNR.

L'arrêt du diagnostic sérologique en première ligne (notifié sur le site web du CNR depuis le 1er Janvier 2023) a conduit à renvoyer 28 prélèvements aux laboratoires expéditeurs (principalement des centres de Tri). Chaque renvoi a fait l'objet d'un appel téléphonique au cadre de service ou biologiste à qui il a été précisée la liste des laboratoires effectuant le diagnostic sérologique en première intention et la conduite à tenir devant une demande de diagnostic d'une hantaviose et la place du diagnostic moléculaire (informations disponibles sur le site web du CNR)

- 3 sollicitations post-analytiques de médecins nous ont amenés à commenter des comptes rendus de résultats d'examens (choix des antigènes, cinétique virale et des anticorps, autre étiologie possible).

Le laboratoire associé a enregistré 5 prestations de conseil. Ces prestations de conseils concernaient des demandes d'informations concernant les résultats de l'enquête de séroprévalence qui avait eu lieu en décembre 2022 dans deux quartiers (zone de Sablance commune de Macouria et quartier Boutillier commune de Rémire Montjoly) autour du premier, troisième et quatrième cas identifiés cette même année. Ces prestations portaient sur la restitution des résultats aux élus des communes concernés. De plus, des restitutions des résultats ont également été faites aux populations ayant participé à l'enquête de séroprévalence (zone de Sablance et quartier Boutillier) en présence de la croix rouge, de l'ARS, de Santé Publique France et des représentants des élus des communes concernées.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

/

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

- Il y a eu une question émanant d'un particulier portant sur la conduite à tenir en cas d'infestation du logement par des rongeurs et d'exposition à ces rongeurs ou leurs déjections (et en particulier à l'exposition à la souris domestique).
- Echange avec la journaliste Marion Durand pour la rédaction d'un article sur dans l'e-mag OUTRE-MER grandeur Nature.

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

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année 2023, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

6.1.1 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.

Un des 2 objectifs de l'étude consistait à étudier la détection moléculaire de PUUV dans le plasma et l'urine de patients hospitalisés dont l'infection aiguë par un hantavirus était confirmée sérologiquement.

Les résultats sont disponibles pour cet objectif du projet et ont fait l'objet d'une publication:

Reynes JM, Schaeffer L, **Papadopoulos P**, Ait-Ahmed M, **Siby-Diakite D**, **Ripaux-Lefèvre M**, Buivan TP, Lechat S, Vray M, Galempoix JM; HANTADIAG Study Group. Molecular Detection of Orthohantavirus puumalaense in Plasma and Urine Samples from Hospitalized Patients Presenting with a Serologically Confirmed Acute Hantavirus Infection in France. *J Clin Microbiol.* 2023;61(8):e0037223.

Abstract

Molecular detection of Orthohantavirus puumalaense (PUUV) RNA during the course of the disease has been studied in blood of patients in Sweden and Slovenia. The use of urine has been poorly investigated. The aims of this work were to study PUUV RNA detection in plasma from a cohort of patients in France where a different PUUV lineage circulates and to assess the use of urine instead of plasma. Matched plasma and urine samples were collected daily from hospitalized patients presenting with fever, pain, and thrombocytopenia within the last 8 days and testing positive for IgM and IgG against PUUV in serum collected at inclusion and/or approximately 1 month after release. RNA was extracted from samples, and PUUV RNA was detected using real-time reverse transcription-PCR for plasma and urine samples. Sixty-seven patients presented a serologically confirmed acute hantavirus infection. At inclusion, PUUV RNA was detected in plasma from 55 of 62 patients (88.7%) sampled within the first week after disease onset, whereas it was detected in 15 of 60 (25.0%) of matched urine samples. It was then detected from 33 (71.7%) and 2 (4.4%) of 46 patients discharged from the hospital during the second week after disease onset, in plasma and urine, respectively. When PUUV RNA was detected in urine it was also detected in plasma, and not vice versa. Detection of PUUV RNA in plasma from hospitalized patients in France is similar to that observed in Sweden and Slovenia. Urine is not an appropriate sample for this detection.

L'autre objectif du projet consiste à évaluer les performances des kits commerciaux sérologiques dans les conditions usuelles d'utilisation sur les échantillons des patients inclus dans l'étude. Les résultats ont été disponibles en 2023 et sont en cours d'analyses.

6.1.2 Evaluation des performances du kit RealStar® Hantavirus-HFRS RT-PCR 1.0 (Altona Diagnostics) pour la détection du virus Puumala (labo. coordonnateur)

Le kit RealStar® Hantavirus-HFRS RT-PCR RUO 1.0 est basé sur la technologie de PCR en temps réel, pour la détection qualitative et la différenciation de l'ARN spécifique de quatre hantavirus responsables de fièvre hémorragique avec syndrome rénal (HFRS): l'hantavirus Puumala (PUUV), l'hantavirus Hantaan (HTNV), l'hantavirus Seoul (SEOV) et l'hantavirus Dobrava-Belgrade (DOBV). Le kit contient deux tests de RT-PCR indépendants : un pour l'amplification et la détection spécifique de l'ARN de PUUV et HTNV, et un autre pour l'amplification et la détection spécifique de l'ARN de SEOV et DOBV.

Nous avons réalisé une évaluation indépendante des performances du Kit RealStar® Hantavirus-HFRS RT-PCR Kit RUO 1.0 pour la détection qualitative et spécifique du virus Puumala dans des échantillons cliniques préalablement caractérisés par le CNR avec la RT-PCR temps réel PUUV accréditée ISO 15189 (technique de référence).

La sensibilité du test a été évalué sur 94 sérums et plasmas provenant de patients prélevés avant le 10ème jour d'évolution de la maladie, porteurs d'IgM et IgG anti-hantavirus et positifs pour l'ARN PUUV avec la technique de référence, au moment du diagnostic réalisé entre 2017 et 2023. Les 94 échantillons positifs ont été choisis au sein des 3 régions géographiques de la zone d'endémie correspondant aux 3 clusters phylogénétiques des souches PUUV circulant en France : 43 dans la partie Nord et Nord-Est, 49 dans le Sud de la zone d'endémie et 2 dans la partie Ouest de la zone d'endémie. La spécificité du test a également été évaluée sur 30 sérums et plasmas provenant de patients prélevés dans les 10 premiers jours de la maladie et pour lesquels une infection par hantavirus a été confirmée sérologiquement ou exclue sérologiquement (sur la base d'une cinétique) et négatifs pour l'ARN PUUV.

La spécificité du test concernant la réactivité croisée avec d'autres hantavirus que PUUV (DOBV, Tula, Maripa, SEOV, Nova, Thailand et HTNV) ou agents pathogènes causant des symptômes similaires à ceux d'une infection par un hantavirus ou susceptibles d'être présents dans des échantillons de plasma ou sérum (souches des virus CMV, VZV, DENV 1 et 2, CHIKV, OROV, SFSV, WNV, ZIKV et de leptospires) a été également évaluée.

L'ARN viral (ou ADN bactérien) a été extrait à partir d'un volume de 150 µL de plasma, sérum ou surnageant de culture avec le kit Nucleospin Virus Dx de Macherey-Nagel (Allemagne) et élué sous 50 µL. Un contrôle interne (CI), celui du kit RealStar® HantavirusHFRS ou le virus Sigma (virus de drosophile) pour la technique de référence, a été utilisé comme contrôle de l'étape d'extraction des acides nucléiques et d'inhibition de la RTPCR. Dix µL d'extrait ARN (ou ADN bactérien) ont été ensuite analysés dans un volume réactionnel total de 30 µL pour le test RealStar® Hantavirus-HFRS et 2,5 µL dans un volume réactionnel total de 20 µL pour la technique de référence. Les amplifications ont été réalisées sur deux CFX96™ Real-Time PCR Detection System de BioRad.

Pour l'analyse des résultats, les 94 échantillons positifs ont été classés en 3 groupes en fonction du Ct détecté au moment du diagnostic afin d'évaluer la sensibilité 21/05/2024 analytique : $29 \leq Ct \leq 32 = 6$ (5 de la partie Nord-Est, 1 de la partie Sud), $32 < Ct \leq 36 = 40$ (16 partie Nord-Est, 23 partie Sud, et 1 partie Ouest de la zone d'endémie). Seuls les échantillons avec une valeur de Ct ≥ 36 ont été analysés en duplicate (nombre d'essais limité).

Les résultats sont les suivants :

Groupes Valeur de Ct	Technique de référence			RealStar Hantavirus-HFRS PUUV			
	POS	NEG	DTX	POS	Moyenne Ct PUUV	NEG	DTX
$29 \leq x \leq 32$	6	0	0	6	27,4	0	0
$32 < x \leq 36$	48	0	0	45	28,1	1	2
> 36	40	0	0	35	29,0	2	3
NEG	0	30	0	0	--	30	0
TOTAL	94	30	0	86	--	33	5

Les échantillons avec des valeurs de Ct<10 et des courbes d'amplification non exponentielles ont été classés comme douteux (CI conforme). Par ailleurs, deux échantillons positifs (Ct>36) détectés négatifs et trois échantillons positifs (Ct 35, 38 et 39) classés comme douteux avec le kit Altona ont été détectés négatifs ou douteux avec le test de référence lors de cette nouvelle analyse (CI conforme).

Ainsi, le pourcentage global de résultats concordants entre le kit RealStar® Hantavirus-HFRS RUO 1.0 et la technique de référence du CNR au moment du diagnostic est de 91,7% (86/94) pour la détection du virus Puumala. Les résultats faux-négatifs ou douteux obtenus lors de cette analyse dans des échantillons de faible charge virale sont le fait d'une dégradation du matériel génétique par suite de processus de congélation/décongélation. Aucun résultat faux positif pour PUUV n'a été observé sur les échantillons négatifs, ni sur le panel d'échantillons positifs pour des hantavirus autre que PUUV ou autres agents pathogènes. La spécificité du kit RealStar® Hantavirus-HFRS RUO 1.0 est de 100%. Aucune amplification n'a également été observée dans le canal de détection HTNV pour l'ensemble des échantillons analysés à l'exception du puits contenant le virus HTNV (souche Souche 76-11).

Le CNR des Hantavirus recommande le kit RealStar® Hantavirus-HFRS RT-PCR RUO 1.0 (Altona Diagnostics) pour la détection du virus Puumala dans des échantillons cliniques de plasma et sérum.

6.1.3 HANTAVIRUS et rats sauvages : projets ARMAGUEDON, Rat en Ville-Eurométropole de Strasbourg et RATVAR (labo. coordonnateur)

ARMAGUEDON est un projet de recherche financé par l'ANR dans le cadre de l'appel à projet (AAP) générique 2020, conduit par le Muséum National d'Histoire Naturelle, l'Institut Pasteur, VetAgroSup à Lyon et Sorbonne Université, en partenariat avec la ville de Paris. Il s'agit d'une étude intégrative inédite par son approche interdisciplinaire en génomique, écologie urbaine, éco-épidémiologique et sciences humaines. Sa vocation est d'aider à la gestion des rats de Paris et de développer une meilleure connaissance de la biodiversité urbaine. Initialement d'une durée de 30 mois (1^{er} mars 2021 – 31 août 2023), le projet a été prolongé d'une durée de 16 mois portant son échéance au 31 décembre 2024. Les objectifs sont 1/ d'étudier la population parisienne de rats bruns (biologie et génétique des populations), 2/ d'identifier pathogènes et vecteurs dans cette population en lien avec leur fond génétique et leur environnement, 3/ d'étudier la résistance aux rodenticides de ces rats et 4/ la perception des habitants sur la présence des rats dans les espaces urbains.

Plusieurs unités de l'Institut Pasteur sont impliqués dans le 2^{ème} objectif du projet, et en particulier 3 CNR rattachés à ces unités : le CNR de la leptospirose, le CNR de la peste et autres yersiniose, et le CNR des Hantavirus. La coordination du projet est assurée au sein de l'Institut Pasteur par le responsable du CNR des Hantavirus, qui est également impliqué dans la détection de l'hantavirus Seoul dans des échantillons de rats prélevés dans différents parcs et jardins de la ville de Paris, et dans la caractérisation moléculaire des souches détectées.

La première année du projet (2021) a été consacré l'obtention des autorisations administratives et réglementaires ainsi qu'à la collecte de prélèvements de rongeurs qui s'est poursuivie et terminée sur l'année 2023. Sur ces trois années, dix parcs ou jardins urbains ont été sélectionnés [les noms des parcs sont confidentiels] et des captures organisées sur chaque site entre mars et octobre de chaque année (participation du CNR aux captures). Des échantillons de sang, d'excrétas et des organes ont été prélevés chez **132 rats bruns sacrifiés**.

Le laboratoire coordonnateur est également impliqué dans deux autres projets de recherche qui visent à recenser les pathogènes à potentiel zoonotique portés par les rats (principalement *Rattus norvegicus*) vivant en milieu urbain et ce afin de mieux appréhender

les risques sanitaires pour l'homme. Il s'agit du projet « Rat en Ville-Eurométropole de Strasbourg » (collaboration avec l'IPHC de Strasbourg) qui s'intéresse aux rats vivant dans cette métropole et le projet RATVAR (AAP ANRS MIE EMERGEN 2021_ANRS0163, 1er décembre 2021 - 30 Novembre 2024) aux rats d'une dizaine d'autres villes de France parmi lesquelles Lyon, Besançon, Bordeaux, Nantes, Marseille et Nancy. Comme pour le projet ARMAGUEDON, le CNR est impliqué dans la détection de l'hantavirus Seoul dans les échantillons de rats prélevés et par la caractérisation moléculaire des souches détectées.

Pour ces deux projets, les captures ont commencé en 2022 et se sont poursuivies sur 2023 (les sessions de captures sont terminées pour la ville de Strasbourg). Sur ces deux années, ce sont **126 rats bruns qui ont été capturés et sacrifiés à Strasbourg** et **440 dans le cadre du projet RATVAR**. Pour tous ces animaux, des échantillons de sang, d'excrétas et des organes ont été prélevés.

Ces trois études devraient permettre de mieux évaluer la circulation du virus Seoul et sa diversité génétique au sein des populations urbaines de rats en France métropolitaine. En effet à ce jour, la détection virologique et/ou sérologique du virus Seoul chez des populations de rats bruns sauvages a uniquement été décrite à Lyon et ses environs, aux alentours d'Orléans, de Bourg-en-Bresse et en Camargue.

En 2023, la recherche de l'Hantavirus Seoul sur prélèvement de poumon a été initiée dans 4 villes du projet RATVAR : les villes de Bordeaux, Nancy, Marseille et Lyon. Le virus Seoul n'a pas été détecté à Marseille et Nancy mais le nombre d'individus testés était très faible (13 pour Marseille et 19 pour Nancy). En revanche, le virus a été détecté dans la ville de Bordeaux avec une prévalence de 7,9% (6/76 rats) et dans la ville de Lyon avec une prévalence très élevée de 36% (77/211) tout arrondissement confondu (captures dans le 3^{ème}, 4^{ème}, 5^{ème} et 8^{ème} arrondissement). Ces premières données sur Lyon confirment celles de la littérature : prévalence de 14% (18/127) retrouvée dans la région de Lyon sur des rats capturés entre 2010 et 2012 (Ayrat et al., 2015) et une séroprévalence de 17,2% (15/87) sur des rats capturés au parc de la tête d'Or (6^{ème} arrondissement) entre 2020 et 2022 (Hussein et al., BioRxiv, doi: <https://doi.org/10.1101/2023.04.12.536564>).

La recherche du virus Seoul pour l'ensemble des villes de ces trois projets sera poursuivie en 2024 et le séquençage des génomes viraux complets des souches détectées sera réalisé par approche AmpliSeq (PCR Multiplex).

6.1.4 Caractérisation moléculaire de souches du virus Seoul chez le rat brun sauvage, *Rattus norvegicus*, et le rat noir sauvage, *Rattus rattus*, en Afrique (labo. coordonnateur)

Récemment, la mise en place d'une PCR Multiplex pour acquérir les segments S, M et L par séquençage haut débit (technique AmpliSeq) des souches du virus Seoul circulant en Europe, Asie du Sud et Afrique (souches de la lignée 7) a permis d'obtenir sur des prélèvements de rongeur (Ct<32) capturés au Cambodge des génomes complets ou quasi complets du virus (segment S et M complets et segment L partiel).

Le laboratoire coordonnateur a été sollicité par Guillaume Castel du centre de biologie pour la gestion des populations (CBGP-INRAE) à Montpellier, qui travaille sur les séquences d'hantavirus associés aux rongeurs, pour effectuer le séquençage de souches du virus Seoul détectées chez *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus* en Afrique et plus précisément au Mali. En effet à ce jour, l'épidémiologie moléculaire du virus Seoul en Afrique est très mal documentée. On commence seulement à mieux connaître la circulation du virus Seoul par sa détection dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest, notamment au Sénégal et au Bénin. La ville de Bamako au Mali de par sa situation géographique et socioéconomique constitue un environnement potentiellement favorable pour l'introduction du virus via les routes commerciales d'Afrique de l'Ouest, en particulier depuis le Sénégal à l'ouest et les pays du golfe de Guinée auxquels appartient le Bénin, au sud.

L'étude menée sur les populations de rats bruns et de rats noirs de plusieurs quartiers de la ville montre une circulation active du virus et à des prévalences importantes dans la

presque totalité de la ville. Cinq souches ont été séquencées avec succès par AmpliSeq sur MinION (Oxford Nanopore). Les analyses génétiques des 3 segments suggèrent qu'une seule souche circule aujourd'hui à Bamako et qu'un réassortiment entre une souche de la lignée cosmopolite 7 détectée récemment au Bénin et une souche de la lignée asiatique 1 pourrait en être à l'origine. Cette observation d'émergence locale de foyer d'infection par le virus Seoul est une nouvelle illustration des conséquences secondaires des processus d'invasion des rats commensaux en termes de santé publique. La détection du virus SEOV à Bamako pourrait inciter à rechercher le virus en cas de fièvres d'étiologie inconnue. A ce jour, aucun cas humain d'infection par un hantavirus confirmé virologiquement n'a été détecté, documenté en Afrique.

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

(i) Publications nationales

- Reynes JM, **Sauvage V**. Diagnostic de laboratoire d'une infection par un hantavirus. Revue de biologie médicale. 2023 Mars. [Article N°371]

- Epelboin L, Abboud P, Abdelmoumen K, About F, Adenis A, Blaise T, Blaizot R, Bonifay T, Bourne-Watrin M, Boutrou M, Carles G, Carlier PY, Carod JF, Carvalho L, Couppié P, De Toffol B, Delon F, Demar M, Destoop J, Douine M, Droz JP, Elenga N, Enfissi A, Franck YK, Fremery A, Gaillet M, Kallel H, Kpangon AA, **Lavergne A**, Le Turnier P, Maisonobe L, Michaud C, Mutricy R, Nacher M, Naldjinan-Kodbaye R, Oberlis M, Odonne G, Osei L, Pujo J, Rabier S, Roman-Laverdure B, Rousseau C, **Rousset D**, Sabbah N, Sainte-Rose V, Schaub R, Sylla K, Tareau MA, Tertre V, Thorey C, Vialette V, Walter G, Zappa M, Djossou F, Vignier N. [Overview of infectious and non-infectious diseases in French Guiana in 2022]. Med Trop Sante Int. 2023 Feb 17;3(1):mtsi.v3i1.2023.308. doi: 10.48327/mtsi.v3i1.2023.308. eCollection 2023 Mar 31.

(ii) Publications internationales

- **Reynes JM**, Schaeffer L, Papadopoulos P, Ait-Ahmed M, Siby-Diakite D, Ripaux-Lefèvre M, Buivan TP, Lechat S, Vray M, Galempoix JM; HANTADIAG Study Group. Molecular Detection of Orthohantavirus puumalaense in Plasma and Urine Samples from Hospitalized Patients Presenting with a Serologically Confirmed Acute Hantavirus Infection in France. J Clin Microbiol. 2023 Aug 23;61(8):e0037223.

- Matheus S, Houcke S, Lontsi Ngoula GR, Lecaros P, Pujo JM, Higel N, Ba A, Cook F, Djahi P, Resiere D, Hommel D, **Lavergne A**, Kallel H. Emerging Maripa Hantavirus as a Potential Cause of a Severe Health Threat in French Guiana. Am J Trop Med Hyg. 2023 Mar 13:tpmd220390.

(iii) Communications orales nationales

- Lepage Tristan M, Lejeune Jordan, Foulongne Vincent, **Sauvage Virginie**, Le Moing Vincent. Un vomissement sanglant au retour du Kenya. 24^{èmes} Journées Nationales d'Infectiologie. 7 au 9 Juin 2023. Grenoble – France.

- Emergence de cas de syndromes pulmonaires (SHP) en Guyane en 2022 et résultats de l'enquête épidémiologique autour des cas. About F., Guyot M., Rousset D., Le Turnier P., Mubenga F, Oberlis M., Epelboin L., Succo T., **Lavergne A.**, Carvalho L. Poster. 24^{ième} Journée Nationale d'infectiologie. Grenoble. 7-9 Juin 2023

(iv) Communications orales internationales

/

(v) Conférence sur invitation:

/

NB : seules sont citées les communications réalisées en 2023; les travaux soumis pour publication ne font pas l'objet de citation.

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, 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 d'agents zoonotiques comme les hantavirus :

1/ le laboratoire Systématique, Evolution, Biodiversité au Museum National d'Histoire Naturelle à Paris pour le projet de recherche ANR ARMAGUEDON,

2/ le département d'écologie, de physiologie et d'éthologie de l'Institut pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC) à Strasbourg pour un projet d'évaluation du risque zoonotique du rat brun (*Rattus norvegicus*) sur l'Eurométropole de Strasbourg

3/ le laboratoire de référence de la rage et de la faune sauvage de l'ANSES à Nancy

4/ et, l'unité rongeurs sauvages, risques sanitaires et gestion des populations de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon (VetAgro Sup) dans le cadre du projet de recherche RATVAR (ANRS MIE EMERGEN).

Par ailleurs, le laboratoire coordonnateur a été sollicité par le laboratoire de référence de la rage et de la faune sauvage de l'ANSES à Nancy en Septembre 2023 pour remettre en place dans leur laboratoire une activité hantavirus, et ce afin de pouvoir réaliser des études *in vitro* et sur le terrain. Ces études seront complémentaires des nôtres et permettront de collaborer dans une approche «One Health». Le laboratoire coordonnateur accompagnera le laboratoire de L'ANSES dans la mise en place des outils virologiques (incluant la culture cellulaire), sérologiques et de biologie moléculaire par des formations sur 2024 et 2025.

Le laboratoire associé s'appuie sur les compétences du Laboratoire des Interactions Virus-Hôtes pour réaliser les études sur la faune sauvage. Ce laboratoire étudie la faune et les pathogènes qu'elle héberge depuis plus de 15 ans. Composé d'une équipe avec des compétences en médecine vétérinaire, mammalogie, écologie, et virologie, ce laboratoire est le seul en Guyane à réaliser ce type de recherche. Il est en lien avec le SALIM et les vétérinaires du territoire, et le cas échéant avec des partenaires et collaborateurs d'autres laboratoires de recherche. Le LIVH étudie depuis 2008 en association avec le laboratoire de Virologie, les réservoirs sauvages du Virus Maripa et a ainsi pu identifier deux espèces de rongeurs réservoirs (*Zygodontomys brevicauda* et *Oligoryzomys delicatus*). En parallèle, il a également pu identifier les zones de présence préférentielles de ces espèces ceci permettant d'identifier les zones possibles d'expositions.

Le LIVH réalise des captures régulières de mammifères dont les rongeurs sauvages ou commensaux sur le territoire Guyanais et réalise également les enquêtes environnementales autour des cas identifiés par le CNR. En parallèle la recherche d'Hantavirus sur les animaux prélevés et effectués en utilisant les techniques disponibles au CNR.