

**Centre National de Référence
des HANTAVIRUS**

Laboratoire Coordonnateur

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

**Responsable :
Jean-Marc REYNES**

**Laboratoire Associé
Région Antilles-Guyane**

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

**Responsable :
Séverine MATHEUS jusqu'au
30/06/2018 puis Anne LAVERGNE**

**Année d'exercice
2018**

Remerciements

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

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

Résumé analytique

Le CNR des Hantavirus a été attribué pour la période allant du 1^{er} avril 2017 au 31 mars 2022 à l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes (UBIVE) de l'Institut Pasteur à Lyon (laboratoire coordonnateur) et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé). Le CNR a pour mission de développer une expertise sur les Hantavirus du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde, d'apporter conseils en la matière, de contribuer à la surveillance des maladies provoquées par ces virus et d'émettre des alertes en cas de phénomènes anormaux.

Les résultats marquants de l'année sont les suivants :

- Une année inter-épidémique en France métropolitaine avec un niveau de détection de 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 2003-2017. La saisonnalité n'est pas marquée cette année. Le sexe-ratio (2,1) et la médiane d'âge (44,0 ans) des cas sont conformes à ce qui a été observé ces dix dernières années. Parmi les foyers traditionnels d'endémie du virus Puumala, le foyer des Ardennes (et plus précisément la région voisine de l'Avesnois) a été le plus touché.
- La détection d'1 cas d'infection par le virus Seoul survenu en avril à Paris intra-muros suite à une exposition mal cernée (déballage de cartons). Il s'agit du 8^{ème} cas détecté depuis 2012 (aucun décès).
- Aucun cas humain d'infection par l'hantavirus Maripa n'a été diagnostiqué par le laboratoire associé (Institut Pasteur de Guyane) en 2018. Depuis 2008, 6 cas d'infection par le virus Maripa ont été détectés en Guyane dont 4 mortels.
- Suite à la révision taxonomique de l'ex genre *Hantavirus* par le Comité International de Taxonomie Virale (ICTV 2017), le virus Maripa, variant de l'espèce virale *Rio Mamore* a été reclassifié comme appartenant à l'espèce virale *Laguna Negra*. Le virus Laguna Negra faisant partie des MOT, le variant Maripa a lui-même été classé MOT.

Executive summary

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

The highlights of the year are the followings:

- 2018 was an inter-epidemic period in metropolitan France, with a level of detection of hantavirus cases well short of the annual average of cases detected during the 2003-2017 period. The seasonality was unclear. Sex-ratio (2.1) and median age (44.0 years) were consistent with those observed during the last 10 years. Cases were reported in the traditional endemics area, the Ardennes region and particularly the Avesnois, close to this region, being mostly affected.
- the detection in April 2017 of a Seoul virus acute case (patient from Paris with an uncertain exposure and who recovered). That was the 8th Seoul virus infected case detected since the first in 2012 (none deceased).
- no human case of Maripa hantavirus infection has been diagnosed in French Guiana in 2018. Since 2008, 6 cases of Maripa virus infection have been detected including 4 deaths.
- following the taxonomic revision of the former genus *Hantavirus* by the International Committee on Viral Taxonomy (ICTV 2017), the Maripa virus, variant of the viral species *Rio Mamore*, has reclassified as belonging to the viral species *Laguna Negra*. The Laguna Negra virus being included in the list of MOT, the Maripa variant was also reclassified as a MOT.

SOMMAIRE

1	Missions & organisation du CNR	4
2	Activités d'expertise.....	4
2.1	Evolution des techniques au cours de l'année	4
2.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	5
2.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	5
2.4	Collections de matériel biologique	5
2.5	Activités d'expertise proprement dites	5
2.6	Activités de séquençage :	8
3	Activités de surveillance	9
3.1	Description du réseau de partenaires	9
3.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	11
3.3	Surveillance de la résistance aux anti-infectieux.....	16
3.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	16
3.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	17
4	Alertes	19
4.1	Détection d'un cas d'infection par le virus Seoul.....	19
4.2	Détection d'un cas d'infection par le virus Seoul ou un virus Seoul-like	19
5	Activités de rétro-information, de formation et de conseil	19
5.1	Conseil et expertise aux professionnels de santé.....	19
5.2	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	21
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public, etc.)	21
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	21
6.1	PHRC-N HANTADIAG (labo. coordonnateur).....	21
6.2	Production de VSV pseudotypés Hantavirus (labo. coordonnateur).....	21
6.3	Réponse immune et charge virale lors d'infection par le virus Maripa (labo. asso.)	22
6.4	Publications et communications en lien avec les missions et activités du CNR	22
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux	23

1 Missions & organisation du CNR

Par arrêté du 7 mars 2017, le CNR des Hantavirus a été attribué pour la période allant du 1^{er} avril 2017 au 31 mars 2022 à l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes (UBIVE) de l'Institut Pasteur à Lyon (laboratoire coordonnateur) et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé). Les missions du CNR telles que définies dans l'appel à candidature de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) en juin 2016 sont :

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) ;
- 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.

2 Activités d'expertise

2.1 Evolution des techniques au cours de l'année

Le laboratoire coordonnateur a reconduit les techniques de diagnostic accréditées : ELISA IgG et IgM Hantavirus, IF Ig Hantavirus et RT-PCR temps réel virus Puumala

segment S, RT-PCR nichée « Arvicolinae » segment S et RT-PCR nichée « Hantavirus ».

Le laboratoire associé a mis en place une RT-PCR temps réel spécifique du variant Maripa qui est utilisée en première intention pour la recherche de génome viral (*Matheus S et al. 2018*). La RT-PCR nichée conventionnelle réalisée avec des amorces consensus du segment S des hantavirus du Nouveau Monde (*Johnson AM et al. Virology 1997*) précédemment utilisée sera dorénavant réservée en cas de détection d'IgM anti-hantavirus et de RT-PCR temps réel négative pouvant être le reflet d'une infection par un autre hantavirus que le variant Maripa.

Le CNR Hantavirus–LA a également généré un plasmide utilisé comme témoin positif permettant de s'affranchir de la réglementation MOT (taille < 500 pb). Il correspond à la région amplifiée de la RT-PCR temps réel mais également de la 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 toujours en cours (cf. § 6.1)

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Le laboratoire coordonnateur a transféré au laboratoire des arbovirus, des fièvres hémorragiques virales, virus émergents et zoonoses de l'Institut Pasteur de Bangui les détails de son mode opératoire de RT-PCR nichée « Hantavirus » segment L. Un ARN témoin positif (transcrit quantifié du virus Puumala) sera transmis en 2019 à ce laboratoire afin de pouvoir évaluer la limite de détection de la technique mise en place.

2.4 Collections de matériel biologique

Aucune acquisition de souches ou de production de réactifs spécifique en 2018.

Un pool de sérums porteurs d'IgM anti-virus Puumala a été transmis au laboratoire de virologie du CHU de Reims pour servir de contrôle qualité interne.

Du fait de la nouvelle classification de l'hantavirus Maripa en tant que MOT et en attendant d'effectuer les demandes d'autorisation de détention et de mise en œuvre nécessaires pour conserver et étudier les échantillons positifs (collection), le CNR Hantavirus–LA a transféré ces derniers au laboratoire coordonnateur à des fins de stockage.

2.5 Activités d'expertise proprement dites

2.5.1 Confirmation de diagnostic (laboratoire coordonnateur)

Depuis octobre 2004, du fait de la commercialisation de trousse de diagnostic sérologique des hantavirus, le laboratoire coordonnateur n'est plus le seul laboratoire métropolitain à effectuer ce diagnostic. Des laboratoires de biologie médicale spécialisée ou non et des laboratoires hospitaliers proposent ce service (pour un coût de 38 à 106 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).

Ces laboratoires sont au nombre de 16, fin 2018. Douze utilisent un test de diagnostic rapide permettant de détecter des IgM dirigées contre le virus Puumala (et contre les virus Dobrava-Belgrade et-Hantaan pour l'un d'entre eux). Quatre utilisent un test ELISA, deux permettant de détecter les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien-Monde et les deux autres, les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien Monde et du Nouveau Monde (le CH de Charleville-Mézières utilise également le test rapide et le laboratoire Eurofins Biomnis a changé de trousse de diagnostic en fin d'année). Ces laboratoires se trouvent pour la plupart dans la zone d'endémie des cas humains d'infection par le virus Puumala (*Tableau 1*). Un total de 140 prélèvements a été reçu de ces laboratoires. La répartition par laboratoire est indiquée au § 3.1.

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

Laboratoires	Trousses de diagnostic sérologique Hantavirus
Amiens CHU (80)	Reagentia POC Puumala IgM
Besançon CHRU (25)	Reagentia POC Puumala IgM
Bordeaux CHU (33)	Reagentia POC Puumala IgM
Cerba (95)	Euroimmun Pool 1 Eurasia ELISA IgG et IgM
Charleville-Mézières CH (08)	Reagentia Reascan Puumala IgM et Focus Hantavirus ELISA IgG et IgM
Compiègne-Noyon CH (60)	Reagentia POC Puumala IgM
Dijon CHU (21)	Reagentia POC Puumala et Reascan Dobrava-Hantaan IgM
Dole CH (39)	Reagentia POC Puumala IgM
Eurofins Biomnis (69)	Focus Hantavirus ELISA IgG et IgM puis Euroimmun Mosaic 1 IF IgM et IgG
Laon CH (02)	Reagentia POC Puumala IgM
Lille CHRU (59)	Euroimmun Pool 1 Eurasia ELISA IgG et IgM
Nancy CHRU (54)	Reagentia Reascan Puumala IgM
Reims CHU (51)	Reagentia POC Puumala IgM
Saint-Claude CH (39)	Reagentia Reascan Puumala IgM
Saint-Quentin CH (02)	Reagentia POC Puumala IgM
Strasbourg CHRU (67)	Reagentia POC Puumala IgM

ELISA IgG anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 76,0% pour les 46 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales ELISA et dont les résultats étaient disponibles (39 résultats indisponibles), avec un accord modéré entre les techniques commerciales et celles du CNR (coefficient de Kappa fort : 0,61 ; IC 95% : [0,38-0,84]). 15% des prélèvements (n = 7) avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (*Tableau 2*). Ces résultats étaient du même ordre l'an dernier. L'analyse des discordances ne met pas plus en lumière le défaut d'une technique par rapport à une autre.

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

Autres laboratoires	CNR			
	Négatif	Limite	Positif	Total
Négatif	15 (1)	0 (0,5)	1 (0)	16
Limite	0 (0,5)	0 (1)	0 (0,5)	0
Positif	6 (0)	4 (0,5)	20(1)	30
Total	21	4	21	46

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

ELISA IgM anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 63% pour les 46 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales ELISA et dont les résultats étaient disponibles (39 résultats indisponibles), avec un accord modéré entre les techniques commerciales et celles du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,44 ; IC 95% : [0,14-0,73]). 11% des prélèvements (n = 5) avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 3). L'analyse des discordances met en défaut les techniques commerciales pour 3 cas (pas possible de conclure pour les deux autres).

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

Autres laboratoires	CNR			
	Négatif	Limite	Positif	Total
Négatif	4 (1)	3 (0,5)	0 (0)	7
Limite	5 (0,5)	2 (1)	3 (0,5)	10
Positif	5 (0)	1 (0,5)	23 (1)	29
Total	14	6	26	46

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Test rapide PUUV IgM

La concordance de résultats était de 73% pour les résultats disponibles pour 44 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales et dont les résultats étaient disponibles (19 résultats indisponibles), avec un accord fort entre la technique commerciale et celles du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,64 ; IC 95% : [0,40-0,87]). Trois prélèvements avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 4). L'analyse des 3 discordances suggère un défaut de spécificité de la technique ELISA avec l'antigène SEOV du CNR.

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

Autres laboratoires	CNR			
	Négatif	Limite	Positif	Total
Négatif	19 (1)	7 (0,5)	3 (0)	29
Limite	1 (0,5)	1 (1)	0 (0,5)	2
Positif	0 (0)	1 (0,5)	12 (1)	13
Total	20	9	15	44

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

2.6 Activités de séquençage :

Nous n'avons pas effectué cette année de caractérisation moléculaire par technique classique de séquençage type Sanger des souches circulantes, aucune n'ayant été détectée dans un département situé en dehors de la zone traditionnelle d'endémie.

Aucune activité de séquençage génomique de type WGS et NGS n'a été effectuée en 2018. Cela reste un de nos objectifs dans le cadre des activités d'épidémiologie moléculaire (surveillance et investigation d'épidémie) et d'amélioration des techniques moléculaires de diagnostic.

Le CNR des Hantavirus a accès à la plateforme dite Plateforme de Microbiologie Mutualisée (P2M) de l'Institut Pasteur, qui est ouverte à l'ensemble des CNR ainsi qu'aux laboratoires de référence dans le Réseau International des Instituts Pasteur et instituts associés. Dans un esprit de mutualisation technologique, P2M regroupe les demandes et permet ainsi l'utilisation en routine du séquençage à haut débit de multi-pathogènes.

La technologie utilisée par cette plateforme de séquençage est la technologie illumina (fabrication des librairies + séquenceurs). Les banques sont préparées avec le kit Nextera XT et engagées sur le séquenceur NextSeq 500. Une série de matériels est également utilisée pour réaliser les contrôles de qualité tout au long du processus de fabrication de séquence. Des robots pipeteurs et extracteurs permettent d'homogénéiser et de normaliser les ADN et amplicons avant d'entrer dans le pipeline de production.

Les CNR ont à l'heure actuelle la possibilité de faire appel à une expertise bio-informatique, en sollicitant les services supports en interne à l'Institut Pasteur. Ils ont actuellement accès aux bio-informaticiens du Centre de Bio-informatique, Bio-statistique et Biologie Intégrative (C3BI), qui qualifient et réalisent une analyse de premier niveau (contaminations, qualité, assemblage) sur les données sortantes. Ces bio-informaticiens peuvent également apporter leur aide aux CNR, pour le développement de méthodes de génotypage et d'autres pipelines d'analyses des séquences, y compris en cas d'épidémie. Malheureusement, la demande est très supérieure à l'offre (1,2 ETP dédié) et les CNR ne peuvent donc pas être aidés simultanément. Les CNR et les unités qui les hébergent doivent donc faire appel à des ingénieurs ou bio-informaticiens membres de leur équipe de recherche ou employés sur contrat dédié.

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

3 Activités de surveillance

- Une année inter-épidémique en France métropolitaine avec un niveau de détection de 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 2003-2017. La saisonnalité n'est pas marquée cette année. Le sexe-ratio (2,1) et la médiane d'âge (44,0 ans) des cas sont conformes à ce qui a été observé ces dix dernières années. Parmi les foyers traditionnels d'endémie du virus Puumala, le foyer des Ardennes (et plus précisément la région voisine de l'Avesnois) a été le plus touché.
- La détection d'1 cas d'infection par le virus Seoul survenu en avril à Paris intra-muros suite à une exposition mal cerné (déballage de cartons) Il s'agit du 8^{ème} cas détecté depuis 2012 (aucun décès).
- Aucun cas humain d'infection par un hantavirus Maripa n'a été diagnostiqué.

3.1 Description du réseau de partenaires

France Métropolitaine (laboratoire coordonnateur)

- Réseau de partenaires :

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

- Prélèvements réceptionnés :

Le laboratoire coordonnateur a reçu en 2018, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 274 prélèvements (272 sérums ou plasmas, 1 urine, 1 LBA) provenant de 231 patients (35 ayant eu au moins un 2^{ème} prélèvement). Légèrement plus de la moitié de ces prélèvements (50,7%) ont été adressés par des laboratoires pour un diagnostic de 2^{ème} intention (Tableau 5).

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

Diagnostic	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 2^{ème} intention = confirmation (n = 140)	Auv - Rhône-Alpes	Laboratoire Eurofins Biomnis (69)	14
	Bourgogne – Franche-Comté	CHU Dijon (21)	8
		CHRU de Besançon (25)	2
		CH Dole (39)	1
		CH Lons-le-Saunier (39)	1
	Grand-Est	CH de Charleville-Mézières (08)	9
		CHU de Reims (51)	4
		CHRU Nancy (54)	15
		CHRU Strasbourg (67)	7
	Hauts-de-France	CH de Laon (02)	6
		CH de Saint Quentin (02)	4
		CHRU de Lille (59)	23
		CHIC Compiègne-Noyon (60)	2
		CHU Amiens (80)	2
	Ile-de-France	Laboratoire Cerba (95)	39
Nouvelle Aquitaine	CHU Bordeaux (33)	2	
Polynésie française	CH Papeete (987)	1	

NB : une confirmation demandée par le laboratoire du CH de Papeete qui a mis en place à titre exploratoire le diagnostic sérologique des hantavirus (kit Euroimmun Pool 1 Eurasia ELISA IgG et IgM) suite à une échange et prestation de conseil (cf. §5.2 rapport annuel 2018 activités 2017).

Diagnostic	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 1 ^{ère} intention (n = 134)	Auvergne – Rhône-Alpes	CH Valence (26)	5
		CHU Lyon (69)	7
		CH Chambéry (73)	7
	Bourgogne – Franche-Comté	CH Belfort-Montbéliard (90)	1
	Bretagne	CHU Rennes (35)	6
	Grand-Est	Hôpital de Mercy – Metz (57)	8
		Hôpital d'inst. armées Metz (57)	1
		Clinique Rhena Strasbourg (67)	1
		Hôpitaux civils de Colmar (68)	4
	Hauts-de-France	CH Arras (62)	2
		CH Lens (62)	1
	Ile-de-France	Hôpital Saint Antoine (75)	2
		Hôpital Bichat (75)	4
		Hôpital européen G. Pompidou (75)	1
		Hôpital Necker-Enfants malades (75)	6
		Hôpital Pitié Salpêtrière (75)	4
		Hôpital Robert Debré (75)	2
		Hôpital Saint-Louis (75)	7
		Hôpital Tenon (75)	5
		Institut Pasteur (75)	2
		CH Melun (77)	5
		Hôpital Beaujon (92)	2
		Hôpital Ambroise Paré (92)	2
		Hôpital Raymond Poincaré (92)	17
		Hôpital Avicenne (93)	6
		Hôpital Jean Verdier (93)	1
	Nouvelle Aquitaine	CH Niort (79)	4
		CHU Poitiers (86)	2
	Normandie	CHU Caen (14)	2
	Occitanie	CHU Montpellier (34)	1
CH Perpignan (66)		5	
Pays de la Loire	CH Angers (49)	2	
Provence – Alpes – Côte d'Azur	CH Cannes (06)	1	
Polynésie française	CH Papeete (987)	3	

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). Il

en est de même pour nos partenaires hospitaliers de Martinique et de Guadeloupe.

- Prélèvements réceptionnés :

En 2018, le laboratoire associé a reçu 18 échantillons biologiques provenant de 16 patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde. Le nombre de demandes de diagnostic hantavirus reste faible.

L'ensemble des demandes de diagnostic provenaient du Centre Hospitalier de Cayenne : 61,1% (11/18) du service de réanimation 27,8% (5/18) du laboratoire de biologie, une du service de pédiatrie et une du service des urgences (*Tableau 6*).

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

Origine	Guyane	Martinique	Guadeloupe	Total
Secteur hospitalier	18	0	0	18
Centre de santé	0	0	0	2
Secteur privé	0	0	0	1
Total	18	0	0	18

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), Seoul (SEOV), ou Sin Nombre (SNV) et IgG anti-PUUV, SEOV, ou SNV + IF Ig anti-SEOV ou PUUV], le choix des antigènes testés dépendant du lieu d'exposition des patients. Le laboratoire coordonnateur a également recherché l'ARN de PUUV ou d'hantavirus en cas de demande expresse ou sur certains prélèvements ciblés dans le cadre de la surveillance. Au total, 2075 examens ont été effectués sur les 274 prélèvements reçus (*Tableau 7*).

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

Examens	Effectifs ¹	
IF Ig	PUUV	270
	SEOV	270
ELISA IgM	PUUV	270
	SEOV	270
	SNV	3
ELISA IgG	PUUV	270
	SEOV	270
	SNV	3
RT-PCR temps réel	PUUV	155
RT-PCR nichée	Hantavirus Arvicolinae	147
	Hantavirus	147
TOTAL	2 075	

¹ Tous les examens n'ont pas été effectués sur les 274 prélèvements reçus (choix en fonction du contexte clinique et épidémiologique, de l'intervalle date de début de maladie et date de prélèvement, de la nature du prélèvement, et du volume disponible).

Sur la base des résultats de ces examens, les 227 cas (4 patients exclus parmi les 231 prélevés car déjà prélevés et comptabilisés en 2017) ont été classés dans les catégories suivantes :

- 30 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 Seoul, confirmé virologiquement (détection de l'ARN de SEOV par RT-PCR nichée ciblant le genre *Hantavirus* puis identification par analyse de la séquence)
- 22 cas d'infection récente par un hantavirus, confirmés sérologiquement (présence d'IgM et d'IgG anti-hantavirus).
- 6 cas possibles d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 3 cas d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus uniquement, détectés par ELISA et IF).
- 4 cas possibles d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 75 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)
- 86 cas avec un statut indéterminé (n'entrant pas dans les catégories précédentes)

NB : un des 22 cas d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA seulement) ayant une réponse en anticorps en faveur d'une infection par le virus Seoul ou un virus proche est en cours d'investigation en 2019 (recherche d'échantillons plus précoce que celui disponible pour identifier le virus responsable de cette infection).

Au final, 53 cas ont été considérés comme des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus [CCIRH] (32 virologiquement et 21 sérologiquement). L'analyse des tendances portera sur ces 53 cas. Des fiches de renseignements ont été disponibles pour tous sauf 9.

La médiane d'âge des 53 CCIRH est de 44,0 ans (de 17 à 80 ans) et le sexe-ratio (M/F) de 2,1 (36 hommes et 17 femmes), valeurs conformes à celles observées ces 6 dernières années (*Tableau 8*).

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

Année	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Nombre de cas	164	14	105	133	58	232	53
Age médian	42,0	46,0	38,0	39,5	38	39,5	44,0
Sexe-ratio	3,3	2,5	4,0	2,7	2,1	2,6	2,1

Le nombre de CCIRH détecté en 2018 se trouve très en deçà de la moyenne de cas détectés (105 cas) au cours des 12 dernières années (*Figure 5*). Sur cette période, nous observons des années dites « épidémiques » tous les deux à quatre ans. Ces variations d'incidence sont bien connues et ne sont pas dues à un biais de recrutement. Elles sont à mettre en rapport avec la dynamique des populations de rongeurs et la dynamique de circulation du virus dans ces populations qui ne font pas l'objet d'une surveillance.

Le pic principal de détection habituellement retrouvé à la fin du printemps n'est pas observé cette année mais le pic secondaire à la fin de l'automne est perceptible (*Figure 6*).

La distribution géographique selon les départements des 53 CCIRH résidant en France métropolitaine est présentée sur la *Figure 7*. Les données se fondent d'abord 1/ sur le lieu (commune) probable d'exposition (n=33), puis s'il n'est pas indiqué 2/ sur le lieu (commune) de résidence du patient (n=23), et enfin s'ils ne sont pas indiqués 3/ sur le département d'origine du laboratoire ayant effectué le prélèvement (n=0). Tous les cas, y compris les cas d'infection par le virus Seoul, sont situés dans le quart Nord-Est de la France classiquement touché par les infections humaines par le virus Puumala. Parmi les foyers traditionnels d'endémie (Nord, Ardennes, Franche-Comté, Aisne et Oise), celui des Ardennes (et plus précisément de l'Avesnois) a été le plus touché (*Figure 7, Tableau 9*).

Figure 5 : Distribution annuelle des cas confirmés d'infection par un hantavirus en France métropolitaine, 2006-2018 sur la base de la date du prélèvement du patient (le trait bleu représente la moyenne sur la période).

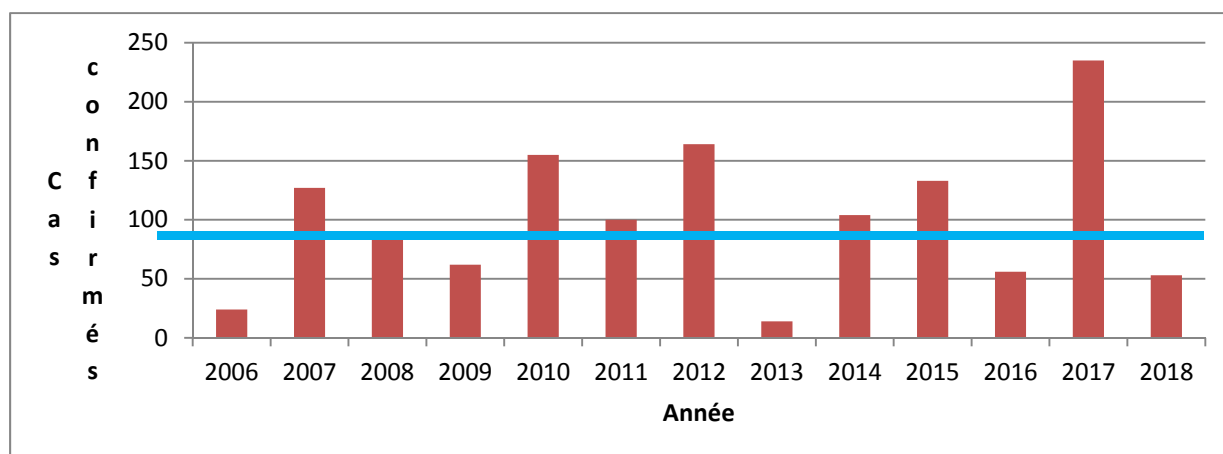


Figure 7 : Distribution spatiale des 53 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus détectés en France métropolitaine en 2018 (en hachuré, les départements où des cas ont été détectés sur la période 2003-2017).

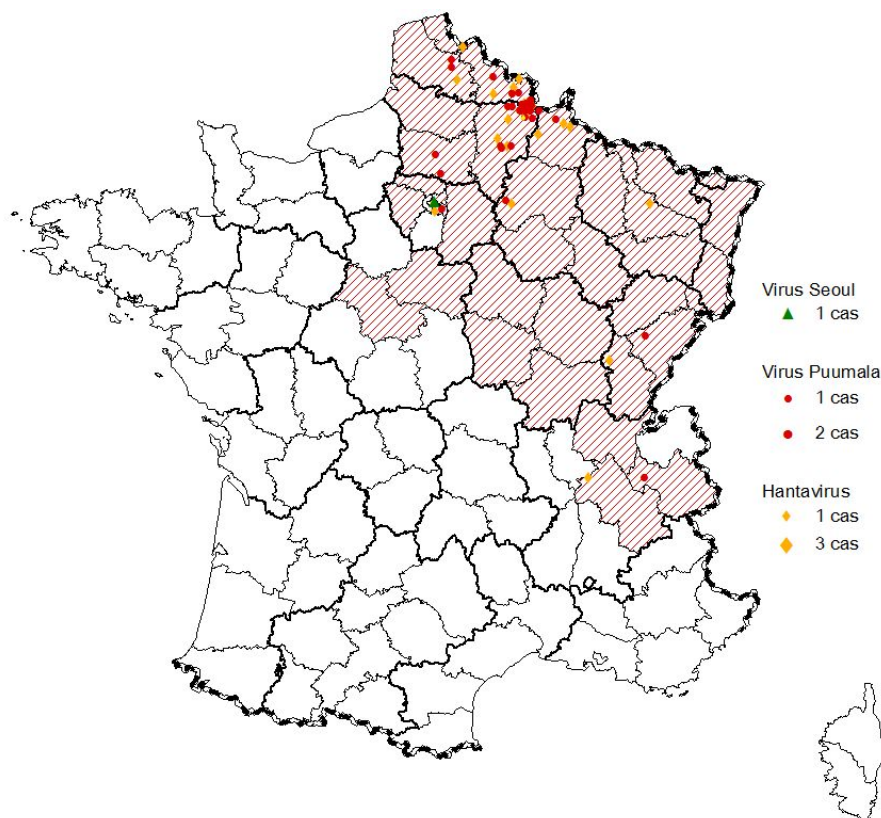
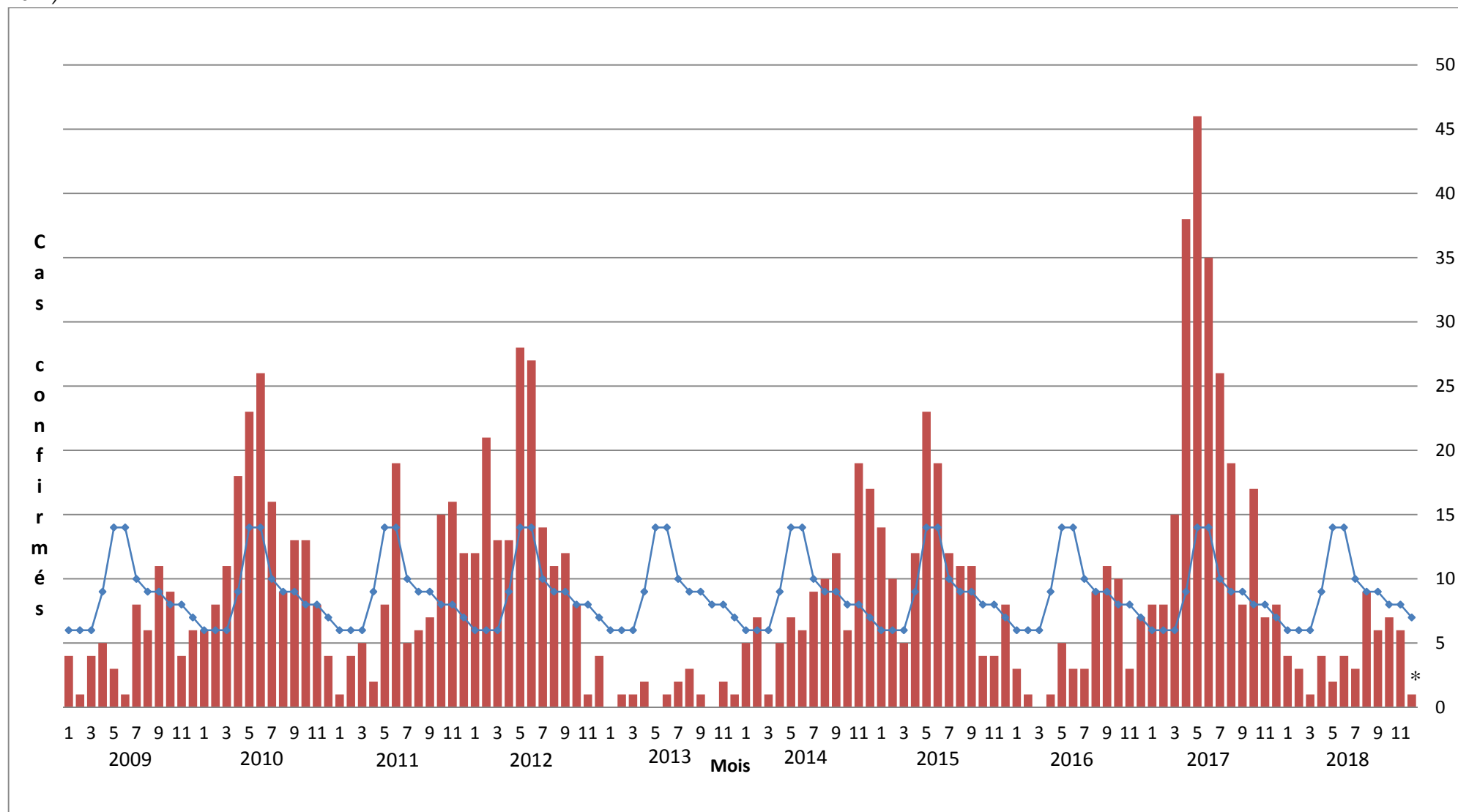


Figure 6 : Distribution mensuelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine Janvier 2009 – Décembre 2018 (sur la base de la date de prélèvement du patient ; la ligne discontinue bleu indique la moyenne mensuelle de cas sur la période 2006-2017)



* Bilan ne tenant pas compte des résultats d'analyses effectuées en janvier 2019 sur des échantillons de patients prélevés en décembre 2018 mais reçus en 2019

Tableau 9: Distribution spatio-temporelle de cas confirmés d'infection récente par un hantavirus, 2018, France métropolitaine (les départements listés sont ceux dans lesquels des cas ont été détectés sur la période 2003-2017) [sur la base du département d'exposition ou de résidence si lieu d'exposition non précisé et sur la base de la date de prélèvement du patient ; 3 cas détectés en 2018 - un du Nord et 2 de l'Aisne - sont prélevés en décembre 2017]

Région	Département	Population Municipale Décret 2017	Année																						
			2013		2014		2015		2016		2017		2018												
			Total	Incid.†	Total	Incid.†	Total	Incid.†	Total	Incid.†	Total	Incid.†	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Hauts-de-France	02	538 659	6	1,11	33	6,10	15	2,77	20	3,70	35+2	6,87	1	2	0	0	1	2	2	2	3	2	0	0	15
	59	2 605 238	1	0,04	18	0,70	14	0,54	13	0,50	38+1	1,5	2	0	0	0	0	1	1	5	1	0	5	0	15
	60	821 552	0	0	6	0,74	1	0,12	2	0,25	9	1,1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
	62	1 472 648	1	0,07	5	0,34	2	0,14	1	0,07	4	0,27	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	3
	80	571 879	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grand-Est	08	277 752	1	0,35	18	6,37	34	12,02	7	2,48	30	10,8	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	5
	10	309 056	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	51	572 293	0	0	5	0,87	11	1,93	1	0,18	5	0,87	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2
	52	179 154	1	0,55	0	0	0	0	0	0	4	2,23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	54	734 403	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,41	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	55	190 626	0	0	2(1*)	1,04	4	2,07	2	1,04	5	2,62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	57	1 044 486	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	67	1 116 658	0	0	0	0	2	0,18	0	0	4	0,36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	68	762 607	0	0	0	0	1	0,13	1*	0,13	3	0,39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
88	372 016	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ile-de-France	75	2 206 488	0	0	0	0	2(1*)	0,09	2	0,09	0	0	0	0	0	1*	0	0	0	0	0	0	0	0	1*
	77	1 390 121	0	0	3	0,22	3(1‡)	0,22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	78	1 427 291	0	0	0	0	1	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	92	1 601 569	0	0	0	0	1	0,06	0	0	2	0,12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	93	1 592 663	0	0	0	0	1	0,06	2	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	94	1 372 389	0	0	2	0,15	1	0,07	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2
95	1 215 390	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Centre V-de-L.	41	333 050	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	45	673 349	0	0	1	0,15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bourgogne-Franche-Comté	21	533 147	0	0	2(1*)	0,38	4	0,76	1	0,19	5	0,94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	536 959	1	0,19	2	0,38	13	2,45	1	0,19	25	4,66	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	39	260 587	0	0	4	1,53	7	2,68	3	1,15	33	12,66	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	58	211 747	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	70	237 706	2	0,83	0	0	10	4,21	0	0	10	4,21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	71	555 408	1	0,18	0	0	2	0,36	0	0	2	0,36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	89	340 903	0	0	1	0,29	1	0,29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90	144 483	0	0	0	0	1	0,69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Auvergne Rhône-Alpes	01	631 877	0	0	1*	0,16	0	0	0	0	2(1*)	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	38	1 251 060	0	0	1	0,08	0	0	0	0	4	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	73	428 204	0	0	0	0	1	0,24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total		28 513 418	14	0,05	104	0,37	132	0,47	56	0,20	231+3	0,82	4	3	1	4	2	4	3	9	6	7	6	1	50

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

Région Antilles-Guyane (laboratoire associé)

En 2018, aucun cas d'infection aiguë par le virus Maripa n'a été identifié. La recherche systématique d'anticorps IgG hantavirus a permis de mettre en évidence deux cas positifs en lien avec une infection ancienne (*Tableau 10*).

Le délai moyen de restitution des résultats (sérologie + détection moléculaire) a été de 2,5 jours ouvrables par rapport à la date de réception au laboratoire.

Tableau 10 : Récapitulatif des résultats de diagnostic d'infection par un hantavirus, 2012 - 2018.

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

* NT = non testé

3.3 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux

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

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France

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

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

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

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

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

Contribution aux réseaux de surveillance internationaux, en particulier européens

Le CNR des Hantavirus est membre du réseau européen pour la détection précoce et la surveillance des maladies virales (ré-)émergentes ou EVD-LabNet (acronyme de **E**merging **V**iral **D**iseases-**E**xpert **L**aboratory **N**etwork) soutenu par l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) : <https://www.evd-labnet.eu/> (ce réseau est une refonte du précédent réseau ENIVD European Network for diagnostics of Imported Viral

Diseases). Les objectifs de ce réseau sont en particulier de partager les connaissances sur le diagnostic et la surveillance des maladies virales émergentes. Plusieurs autres CNR hébergés par l'Institut Pasteur (CNR FHV, CNR Influenzae, et CNR Rage) ainsi que la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) de l'Institut Pasteur en sont membres. Christophe Batejat, responsable adjoint de la CIBU et correspondant Qualité du CNR Hantavirus est le point focal de l'Institut Pasteur pour ce réseau. Il a participé à la 3^{ème} réunion des membres de ce réseau qui s'est tenue à Rome (Italie) du 1^{er} au 3 octobre 2018.

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

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

Le CNR des Hantavirus est membre du Réseau International des instituts Pasteur et collabore avec certains instituts dans le cadre du diagnostic et de l'épidémiologie des infections par hantavirus (en particulier avec Jean-Michel Heraud à l'Institut Pasteur de Madagascar - projet et réactifs -, Emmanuel Nakouné à l'Institut Pasteur de Bangui - conseil - Moussa Diagne à l'Institut Pasteur de Dakar - conseil -, et bien sûr l'Institut Pasteur de Guyane, laboratoire associé du CNR.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Le CNR a continué à s'intéresser à l'origine géographique et au nombre de patients résidant en métropole prélevés pour un diagnostic de 1^{ère} intention au sein du réseau de laboratoires partenaires du CNR (CNR compris). Il s'agit de savoir si des cas suspects sont prélevés tout au long de l'année, sur l'ensemble du territoire métropolitain et en quelle proportion. Les dernières données obtenues portent sur l'année 2017 (il est difficile d'obtenir des partenaires du réseau de surveillance ces données pour l'année qui vient de s'écouler (2018). Elles n'ont pas toutes encore été reçues et n'ont pu être analysées.

La demande de diagnostic ainsi que le nombre de cas confirmés pour l'année 2017 sont les maxima observés depuis 2012, année des premiers relevés (*Tableau 11*).

Tableau 11 : Caractéristiques des patients prélevés en France métropolitaine pour un diagnostic d'hantavirose 2012-2018.

Année	Nombre de patients prélevés	Patients prélevés en zone d'endémie	Cas confirmés
2012	1 872	84% (1 209 / 1 411)*	8,7% (164 / 1 872)
2013	1 111	82% (969 / 1 111)	1,2% (14 / 1 111)
2014	1 604	87% (1 395 / 1 604)	6,5% (104 / 1604)
2015	1 734	91% (1 570 / 1734)	7,7% (132 / 1734)
2016	1556	90% (1 377 / 1 531)	3,6% (56 / 1556)
2017	1 930	89% (1 722 / 1927)	12,2% (235 / 1930)
2018	Indisponible	Indisponible	Indisponible

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

Les demandes restent les plus abondantes au cours de l'été (Figure 8). Le pourcentage de patients prélevés en zone d'endémie reste très élevé (Tableau 11 ; Figure 9).

Figure 8 : Distribution mensuelle des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus et des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (sur la base de la date de prélèvement), France métropolitaine 2011 – 2017.

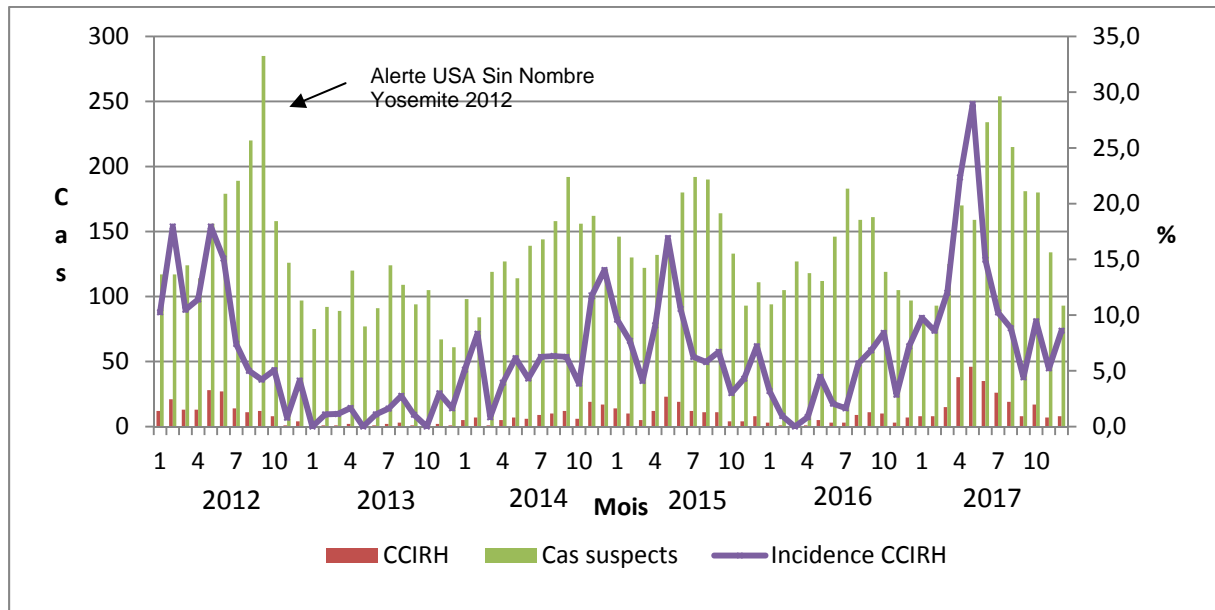
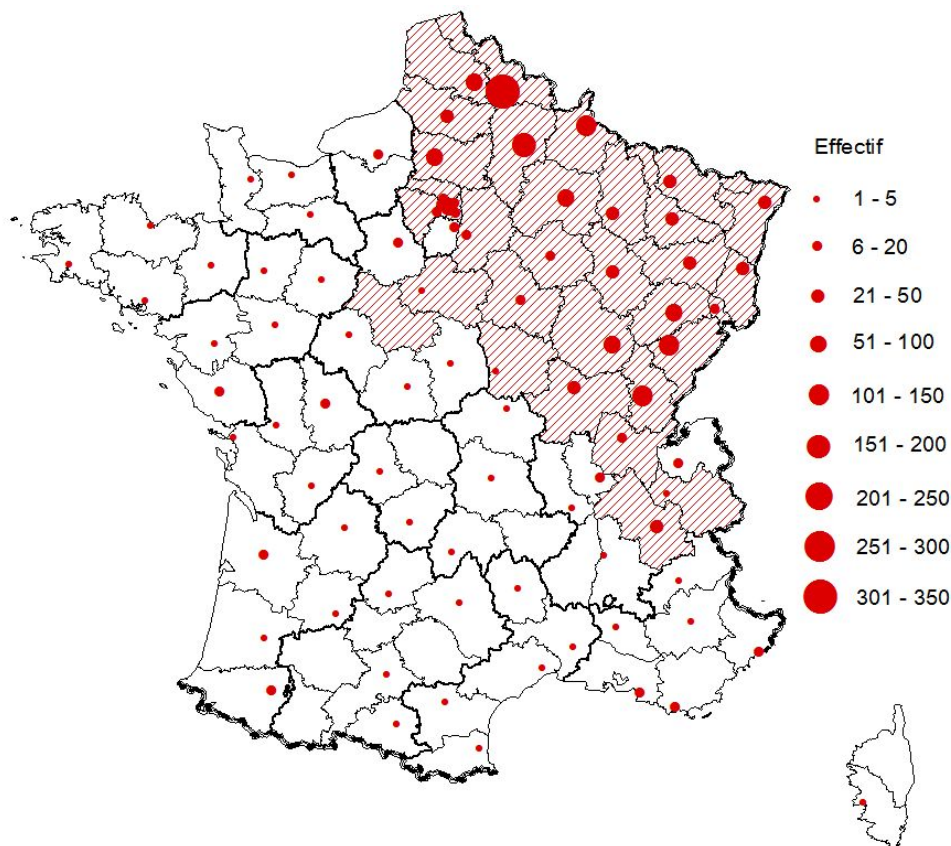


Figure 9 : Distribution spatiale des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus en France métropolitaine en 2018 (rond rouge par département). La distribution se fonde sur le département du lieu de prélèvement ou sur celui du laboratoire transmetteur si le premier n'est pas connu ; en hachuré, les départements où des cas confirmés d'infection par un hantavirus ont été détectés de 2003 à 2017.



4 Alertes

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

4.1 **Détection d'un cas d'infection par le virus Seoul**

Ce cas aigu d'infection relativement peu fréquent a été notifié à SpF en juillet 2018. Le patient malade en avril résidait à Paris, lieu vraisemblable d'exposition. Le mode d'exposition n'a pas été identifié.

4.2 **Détection d'un cas d'infection par le virus Seoul ou un virus Seoul-like**

Un autre cas a été notifié à SpF en octobre 2018. La réponse sérologique chez ce patient était en faveur d'une infection récente par le virus Seoul ou par un virus proche. Les résultats moléculaires étaient négatifs pour les prélèvements testés. Il s'agissait d'un patient résidant dans le Rhône, plombier de profession, malade au mois de septembre 2018. Il était intervenu une semaine auparavant dans la réparation de conduite d'eaux usées en Isère (exposition possible au virus Seoul) et était également revenu 3 semaines auparavant d'un séjour d'un mois en Bulgarie (où l'hantavirus Dobrava-Belgrade est endémique). Ce cas est toujours en investigation.

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

5.1 **Conseil et expertise aux professionnels de santé**

Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé ;

/

Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques

Petrilli O. Production de replicons du virus de la stomatite vésiculeuse portant les glycoprotéines d'enveloppe d'hantavirus (VSV pseudotypé) et utilisation en neutralisation. Master 2 Sciences et Technologies Mention Biologie Moléculaire et Cellulaires Parcours Biotechnologies (Ecole Supérieure de Biologie-Biochimie-Biotechnologies, Université Catholique de Lyon). Janvier – Juillet 2018.

Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion)

/

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

Rétro-information aux partenaires :

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

Information/formation :

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

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

Le site est très utile en particulier pour informer nos correspondants des conditions pré-analytiques. Les extraits des rapports des années d'exercice 2012 à 2017 y sont actuellement disponibles. Un total de 2 099 visiteurs est dénombré sur l'année 2018 avec près de 70% de ces visiteurs sur la page « La maladie – Recommandations », un temps moyen par page visualisée de 3 min, mais un taux global de rebond élevé (78%).

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 et de son suppléant. Une adresse email générique cnr-hantavirus@pasteur.fr a été créée et renvoie les messages au personnel du CNR. Seuls le responsable et son suppléant exercent l'activité de conseil. Les appels sont tracés sur un fichier de type Excel partagé par le personnel où sont notés l'objet de l'appel reçu et la réponse apportée.

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

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

Activités de conseil aux professionnels de santé :

Le laboratoire coordonnateur a enregistré seulement 4 prestations de conseil par téléphone, email ou courrier:

- il a été sollicité en pré-analytique pour savoir si une suspicion d'infection par un hantavirus pour un patient était justifiée et précisé les conditions pré-analytiques (n=2).
- il y a eu également une sollicitation en post-analytique, pour commenter des comptes rendus de résultats d'examens
- un laboratoire effectuant le diagnostic sérologique en 1^{ère} intention nous a sollicités pour connaître un organisme effectuant un contrôle externe de la qualité pour les examens sérologiques Hantavirus.

Le laboratoire associé n'a enregistré aucune prestation de conseil en lien avec l'expertise hantavirus au cours de l'année 2018. Toutefois des discussions ont été initiées avec des cliniciens du Centre Hospitalier de Cayenne concernant le diagnostic différentiel des hantavirus du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde. En effet, certaines demandes sont associées à une demande de diagnostic leptospirose laissant supposer une recherche d'hantavirus ancien monde. Une sensibilisation devra être menée auprès des cliniciens concernant cette problématique.

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Un avis de classement documenté sur le virus Maripa et sur le virus Rio Mamore (sur la base des dispositions de l'article R.4421-3 du code de travail relatives au classement des agents biologiques pathogènes) a été fourni par le responsable du CNR en mars 2018 à la direction de l'Inspection des Produits Biologique de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé, à la demande de l'agence.

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

Aucune sollicitation en 2018.

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

6.1 PHRC-N HANTADIAG (labo. coordonnateur)

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

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

L'année 2018 était une période inter-épidémique. Elle ne nous a pas permis de combler le retard des inclusions que nous observons depuis 2016. Nous accusons en fin d'année un déficit d'inclusion par rapport à notre prévisionnel (nous n'atteignons pas encore 50% de cas et 50% de témoins). Une nouvelle année d'inclusion est programmée en 2019.

6.2 Production de VSV pseudotypés Hantavirus (labo. coordonnateur)

L'objectif de ce projet est de produire des virus de la stomatite vésiculeuse (VSV) pseudotypés avec les glycoprotéines d'enveloppes de plusieurs (virus Puumala, Tula, Thailand et Nova). Le travail consiste à amplifier la séquence des segments M codant pour les glycoprotéines de ces virus enveloppés à ARN tri-segmenté, à les cloner dans un plasmide, à transférer des cellules 293T avec ces plasmides afin de permettre l'expression de ces glycoprotéines à la membrane cellulaire, puis à infecter ces cellules transfectées par des virus VSV délétés de leur gène d'enveloppe et porteur d'un gène rapporteur fluorescent afin de produire les virus pseudotypés. S'ils étaient produits, ces virus de groupe à risque 1, et non MOT pourraient être manipulés plus facilement que des hantavirus de groupe à risque 2 ou 3 et pour la plupart classés Micro-organismes et Toxines soumis à réglementation

(MOT) et pourraient être utilisés dans des essais de neutralisation très rapides et à haut débit et à étudier *in vitro* et/ou *ex vivo* les voies d'entrées de ces virus dans des cellules humaines. Nous avons bénéficié pour ce projet de la grande expertise d'Olivier Reynard de l'équipe Inserm Base Moléculaire de la pathogénicité virale, qui a co-encadré l'étudiante en charge de ce projet. Plusieurs difficultés ont été rencontrées dans sa réalisation, comme l'obtention de la séquence complète codante du segment M de PUUV, la toxicité des plasmides avec inserts pour les bactéries (NVAV en particulier), et les titres faibles de stock de virus pseudo-typés (THAIV). Au final, dans le temps imparti, seul un stock de VSV pseudo-typé TULV à titre élevé a pu être produit. La neutralisation de ce virus en culture cellulaire a été effectuée avec des sérums de patients infectés par PUUV ou TULV. Les titres neutralisants étaient très proches. Ce projet s'est avéré un véritable challenge technologique et n'a pu aboutir dans le temps voulu. Néanmoins, sans être priorisé, son développement n'est pas enterré.

6.3 Réponse immunitaire et charge virale lors d'infection par le virus Maripa (labo. asso.)

Depuis 2008 en Guyane, six cas humains d'infection autochtone par un hantavirus ont été diagnostiqués. Parmi ces six cas, deux ont survécu à l'infection par l'hantavirus Maripa. Afin de mieux apprécier les paramètres pouvant être impliqués dans l'évolution clinique favorable ou défavorable des patients infectés (mortalité ou survie du patient), une étude portant sur la réponse immunitaire (IgM et IgG) induite par l'infection et sur les charges virales observées (nombre de copie du virus) chez ces six patients à l'admission à l'hôpital a été réalisée. L'évolution de ces deux paramètres a également été suivie chez le dernier patient hospitalisé et non décédé. Publications et communications en lien avec les missions et activités du CNR

À l'admission à l'hôpital les 6 patients infectés présentaient un titre élevé en IgM dirigées contre l'Hantavirus Maripa. Aucune corrélation entre la réponse immunitaire ou la charge virale et l'évolution de la maladie n'a été observée. Le suivi de ces deux paramètres biologiques jusqu'à 46 jours post-maladie chez le cas hospitalisé d'évolution favorable montrait un taux élevé d'IgM à l'admission pour devenir indétectable à 46 jours post-maladie. Inversement, une séroconversion en IgG était observée entre J7 et J12 post-maladie. Le taux d'ARN viral était quant à lui élevé à l'admission et devenu indétectable après 30 jours.

Bien que limité en termes d'effectif, ces travaux apportent de nouvelles informations sur la réponse immunitaire et la charge virale induites suite à l'infection par l'Hantavirus Maripa. Ces travaux doivent maintenant être approfondis pour déterminer le potentiel infectieux du virus détecté à des stades tardifs de la maladie et pour mieux comprendre la physiopathologie de cette infection.

Travaux publiés (cf. § 6.4)

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

- Publications nationales

/

- Publications internationales

Hentzien M, Mestrallet S, Halin P, Pannet LA, Lebrun D, Dramé M, Bani-Sadr F, Galempoix JM, Strady C, Reynes JM, Penalba C, Servettaz A. Bioclinical test to predict nephropathia epidemica severity at hospital admission. *Emerg Infect Dis.* 2018 Jun;24(6):1045-1054.

Matheus S, Kallel H, Roux A, Bremand L, Labeau B, Moua D, Rousset D, Donato D, Lacoste V, Houcke S, Mayence C, de Thoisy B, Hommel D, Lavergne A. Maripa Virus RNA Load and

Antibody Response in Hantavirus Pulmonary Syndrome, French Guiana. Emerg Infect Dis. 2018 Sep;24(9):1734-1736.

- Communications orales nationales

Jalbert M, Reynes JM, Morel B, Fourcade J. Néphropathie à hantavirus: une maladie émergente en Savoie ? 3^{ème} réunion commune Association Régionale des Néphrologues – Association des Néphrologues Centre Auvergne, Grenoble, 14-17 novembre 2017

- Communications orales internationales

/

- Communications affichées nationales

Reynes JM, Carli D, Thomas D, Castel G. Génotypes de l'orthohantavirus Puumala détectés chez l'homme, France, 2012-2016. XXe Journées Francophones de Virologie 2018, 22-23 mars 2018.

- Communications affichées internationales

/

- Conférence sur invitation:

/

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

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

Il n'existe pas en matière d'hantavirus un laboratoire national de référence pour le volet animal de l'infection. Néanmoins, le laboratoire coordonnateur a établi des relations avec des laboratoires s'intéressant à la faune sauvage, et en particulier aux hôtes naturels des hantavirus (Anses, Inra) mais jusqu'à présent, les projets proposés à différents appels n'ont pas été retenus (dont le dernier soumis à l'appel à projet générique de l'ANR en 2018 et qui n'a pas été retenu finalement après avoir été sélectionné à la première étape.

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