

**Centre National de Référence
des HANTAVIRUS**

Laboratoire Coordonnateur

**Institut Pasteur
Unité Environnement et risques
infectieux**

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

**Responsable :
Jean-Marc REYNES**

**Année d'exercice
2020**

**Laboratoire Associé
Région Antilles-Guyane**

**Institut Pasteur de la Guyane
Laboratoire de virologie**

**23 avenue Pasteur
BP 6010
97306 Cayenne**

**Responsable :
Anne LAVERGNE**

Préambule

La crise sanitaire liée à l'émergence du SARS-CoV2 n'a pas épargné le CNR des Hantavirus. Les activités du CNR Virus des Infections Respiratoires (VIR) placé sous la responsabilité de l'Institut Pasteur ont été prioritaires. Le technicien du CNR des Hantavirus a été mis à disposition du CNR VIR début février 2020 afin de renforcer l'équipe technique. Le CNR des Hantavirus n'a pu conduire son activité de surveillance « en temps réel » et cette activité a été reprise en juillet 2020, une fois la première vague « COVID 19 » achevée, avec une analyse rétrospective des échantillons reçus et des données générées. L'activité a pu se poursuivre « normalement » le reste de l'année.

Les activités du CNR laboratoire associé ont également été directement impactées. En effet, un très faible nombre de demandes d'analyse a été reçu en 2020, nos partenaires hospitaliers ayant été fortement mobilisés durant la crise COVID en Guyane. De plus, nos activités de recherche et de mises en place de nouvelles techniques ont été perturbées et reportées en raison d'une activité de diagnostic de la COVID-19 accrue au sein du laboratoire de biologie médicale de l'Institut Pasteur de la Guyane.

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.

Résumé analytique

Le CNR des Hantavirus a été pour la période allant du 1^{er} avril 2017 au 31 décembre 2022 placé sous la responsabilité de l'Institut Pasteur (laboratoire coordonnateur) et 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 2020 sont les suivants :

- une activité perturbée par la crise sanitaire liée à l'émergence du SARS-CoV2,
- la prolongation du mandat du CNR jusqu'au 31 décembre 2022 suite à cette même crise sanitaire,
- une année inter-épidémique en France métropolitaine avec seulement 27 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 2012-2019 (n=110). Le pic de détection au printemps n'a pas été observé. La médiane d'âge (40 ans) était conforme à celle attendue alors que le sexe-ratio est quintuplé (12,5),
- une zone traditionnelle d'endémie inchangée. Les foyers traditionnels d'endémie du virus Puumala ont été actifs,
- un cas d'infection par le virus Seoul à Paris. Il s'agit du 9^{ème} cas détecté depuis la mise en place du diagnostic moléculaire en 2012, avec trois cas dans Paris,
- un cas humain d'infection par l'hantavirus Maripa diagnostiqué par le laboratoire associé (Institut Pasteur de Guyane). Depuis 2008, sept cas d'infection par le virus Maripa ont été détectés en Guyane dont quatre mortels.

Executive summary

The Hantavirus NRC has been endorsed for the April 2017 to December 2022 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:

- activities disturbed by the sanitary crisis due to the emergence of SARS-CoV 2,
- the extension of the duration of the NRC (till 31 December 2022 instead of 31 March 2022) due to this sanitary crisis,
- an inter-epidemic period in metropolitan France, with the detection of 27 hantavirus cases (mostly Puumala virus), well short of the annual average of cases detected during the 2012-2019 period (n=110). The pic of detection usually observed in spring was absent. Median age (40.0 years) was consistent with the median observed for the last 10 years whereas the sex-ratio (12.5) increased fivefold than the one expected.
- the traditional endemic areas was unchanged and active.
- one human case of Seoul virus infection in Paris. That is the 9th case detected since the implementation of the molecular diagnostic in 2012, and 3 cases were from Paris
- one human case of Maripa virus infection diagnosed in French Guiana. Since 2008, seven cases of Maripa virus infection have been detected including four deaths.

SOMMAIRE

1	Missions du CNR	6
1.1	Apporter une expertise :	6
1.2	Apporter un conseil :	6
1.3	Contribuer à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique :	6
1.4	Contribuer à l'alerte :	6
2	Activités d'expertise.....	7
2.1	Evolution des techniques au cours de l'année	7
2.2	Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	7
2.3	Techniques transférées vers d'autres laboratoires	7
2.4	Collections de matériel biologique	7
2.5	Activités d'expertise proprement dites	7
2.6	Activités de séquençage :	10
3	Activités de surveillance	11
3.1	Description du réseau de partenaires	11
3.2	Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections.....	13
3.3	Surveillance de la résistance aux anti-infectieux.....	18
3.4	Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux.....	18
3.5	Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	19
4	Alertes	22
4.1	Détection d'un cas d'infection par le virus Seoul.....	22
4.2	Détection d'un cas d'infection par le virus Laguna Negra	22
5	Activités de rétro-information, de formation et de conseil	23
5.1	Conseil et expertise aux professionnels de santé.....	23
5.2	Conseil et expertise aux autorités sanitaires	24
5.3	Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public, etc.)	24
6	Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	25
6.1	PHRC-N HANTADIAG (labo. coordonnateur)	25
6.2	Recherche d'infection par le virus Nova	26
6.3	Publications et communications en lien avec les missions et activités du CNR	27
7	Coopération avec les laboratoires de santé animale, d'hygiène alimentaire, environnementaux	28

1 Missions du CNR

Les nouvelles missions définies dans l'appel à candidature de l'agence nationale de santé publique (Santé Publique France) le 19 juin 2016 ont été confiées, pour la période allant du 1^{er} avril 2017 au 31 décembre 2022, à l'unité de Biologie des Infections Virales Emergentes (UBIVE) de l'Institut Pasteur à Lyon par arrêté du 7 mars 2017, puis à l'Unité Environnement et Risques Infectieux de l'Institut Pasteur à Paris par arrêté du 12 décembre 2019 (laboratoire coordonnateur ou « LC ») et au laboratoire de virologie de l'Institut Pasteur de Guyane à Cayenne (laboratoire associé ou CNR Hantavirus-LA) (annexe § 9.1). Ces missions sont :

1.1 Apporter une expertise :

- en participant au développement, à l'évaluation et à la diffusion des techniques diagnostiques sérologiques et moléculaires des hantavirus, incluant les virus du Nouveau Monde en liaison avec les laboratoires des départements français d'outre-mer (DFA) ;
- aux laboratoires de biologie de ville et hospitaliers pour le diagnostic des hantaviroses (confirmation de diagnostic, identification de virus, séquençage) ;
- en développant des collaborations avec des laboratoires étrangers, notamment au niveau européen.

1.2 Apporter un conseil :

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

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

- en s'appuyant sur un réseau de laboratoires,
- en participant à l'investigation de cas groupés,
- en collaborant avec les structures en charge de la surveillance chez l'animal.

1.4 Contribuer à l'alerte :

- en signalant à l'agence nationale de santé publique tout évènement inhabituel : augmentation du nombre de cas, apparition de cas groupés, modification des formes cliniques (répartition, modification de l'expression clinique, formes inhabituelles), introduction d'un nouveau sérotype sur le territoire, identification d'une exposition particulière (NAC, etc.), etc.

Suite à l'émergence de l'hantavirus Maripa en Guyane, les missions du laboratoire associé sont en particulier de contribuer à la surveillance épidémiologique pour la région Antilles-Guyane, de développer et d'apporter une expertise microbiologique et de contribuer à l'alerte sanitaire en signalant à SpF, à la Cellule de SpF en région Antilles-Guyane (Cire) et aux Agences Régionales de Santé (ARS) concernées, l'identification de tout nouveau cas humain ou phénomène anormal.

2 Activités d'expertise

2.1 Evolution des techniques au cours de l'année

Le laboratoire coordonnateur a reconduit 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 » ainsi qu'une technique de titrage d'hantavirus en plaque sur cellules Vero E6 fonctionnelle pour certaines de nos souches d'hantavirus (virus Puumala et Nova en particulier). Il n'y a pas eu de développement ou de mis en œuvre d'autres techniques en 2020.

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

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

Une demande de transfert de technique a été exprimée auprès du laboratoire coordonnateur par le laboratoire de virologie du CHU de Dijon. Notre mode-opérateur de la RT-PCR temps réel permettant de détecter le segment S du virus Puumala a été partagé et un ARN synthétique témoin positif a été donné permettant la mise en place de cette technique sur ce site. Il est toujours prévu que ce laboratoire envoie ensuite ses échantillons testés positifs par technique sérologique ou moléculaire au laboratoire coordonnateur.

2.4 Collections de matériel biologique

Le laboratoire coordonnateur a cédé au laboratoire de virologie du CHU de Dijon un ARN synthétique du segment S du virus Puumala (1 tube à 4×10^8 copies/ μ L et 2 tubes à 4×10^6 copies/ μ L) afin de pouvoir évaluer la limite de détection de la technique mise en place dans ce laboratoire.

2.5 Activités d'expertise proprement dites

2.5.1 Confirmation de diagnostic (laboratoire coordonnateur)

Depuis octobre 2004, du fait de la commercialisation de trousse de diagnostic sérologique des hantavirus, le laboratoire coordonnateur n'est plus le seul laboratoire métropolitain à effectuer ce diagnostic. Des laboratoires de biologie médicale spécialisée ou non et des laboratoires hospitaliers proposent ce service (pour un coût de 38 à 110 euros pour les laboratoires spécialisés, ce coût n'étant pas remboursé par la Sécurité Sociale). Dès fin 2004, il a été convenu entre le CNR et ces laboratoires que ces derniers adressent au CNR, à des fins de confirmation et de surveillance (centralisation des cas positifs), les prélèvements avec résultat positif mais également ceux avec un résultat limite ou négatif peu compatible avec la présentation clinique. Cette collaboration est effective et le laboratoire coordonnateur du CNR profite de cette occasion pour les en remercier. En plus du compte-rendu d'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 2020, ces laboratoires étaient au nombre de seize. Douze utilisent un test de diagnostic rapide permettant de détecter des IgM dirigées contre le virus Puumala (et contre les virus Dobrava-Belgrade et-Hantaan pour l'un d'entre eux). Trois utilisent un test ELISA, deux permettant de détecter les anticorps IgG et IgM dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien Monde et un autre, les anticorps dirigés contre les hantavirus zoonotiques de l'Ancien Monde et du Nouveau Monde (le CH de Charleville-Mézières utilise également le test rapide). Enfin un dernier laboratoire utilise un test IF permettant de détecter les anticorps 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.

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

Un total de 75 prélèvements a été reçu de ces laboratoires. La répartition par laboratoire est indiquée au § 3.1.

Techniques commerciales ELISA ou IF IgG anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 66,6% pour les 36 prélèvements testés par les laboratoires utilisant les trousse commerciales ELISA ou IF et dont les résultats étaient disponibles (1 résultat indisponible, 7 non testés), avec un accord modéré entre les techniques commerciales et celle du CNR (coefficient de Kappa: 0,50 ; IC 95% : [0,23-0,77]). 19% soit 7 des prélèvements avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 2). Ce coefficient et ce pourcentage sont du même ordre que ceux observés l'an dernier.

L'analyse de ces discordances montre que pour 2 d'entre elles (29%), il s'agit d'un défaut de sensibilité de la technique du CNR utilisant des antigènes natifs alors que les kits commerciaux utilisent seulement la protéine N recombinante qui, en excès, permet de détecter plus précocement les IgG qui sont dirigées en début d'infection majoritairement contre cette protéine. Par contre l'emploi des antigènes natifs permet de mieux détecter les IgG sur des

sérums prélevés des mois après le début de la maladie. Ce défaut de sensibilité dans le diagnostic sur les sérums précoces est compensé au CNR par l'emploi de la détection moléculaire. Un défaut de spécificité de la technique ELISA Euroimmun utilisée dans le réseau de laboratoire est mis en évidence pour 4 autres des 7 discordances. L'analyse de la dernière discordance ne met pas plus en lumière le défaut d'une technique par rapport à une autre.

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

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	10 (1)	0 (0,5)	0 (0)	10
Limite	3 (0,5)	0 (1)	0 (0,5)	3
Positif	7 (0)	2 (0,5)	14(1)	23
Total	20	2	14	36

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Techniques commerciales ELISA ou IF IgM anti-hantavirus

La concordance de résultats était de 62% pour les 37 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales ELISA ou IF et dont les résultats étaient disponibles (5 non testés), avec un accord modéré entre les techniques commerciales et celle du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,48 ; IC 95% : [0,20-0,77]). 11% soit 4 des prélèvements avaient une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 3). Ce coefficient et ce pourcentage sont du même ordre que ceux observés l'an dernier.

L'analyse de ces discordances met en évidence pour les techniques commerciales mises en œuvre dans le réseau de laboratoire un défaut de spécificité pour 2 cas (impossible de conclure pour les 2 autres, faute de sérum de contrôle).

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

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	8 (1)	3 (0,5)	0 (0)	11
Limite	1 (0,5)	0 (1)	2 (0,5)	3
Positif	4 (0)	4 (0,5)	15 (1)	23
Total	13	7	17	37

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

Techniques commerciales tests rapides PUUV IgM

La concordance de résultats était de 87,5% pour les résultats disponibles pour 32 prélèvements testés par les laboratoires avec les trousse commerciales et dont les résultats étaient disponibles (3 résultats indisponibles, 12 non testés car suspicion d'une infection par un hantavirus différent du virus Puumala ou prélèvement trop tardif par rapport au début de maladie), avec un accord presque parfait entre les techniques commerciales et celle du CNR (coefficient de Kappa pondéré : 0,84 ; IC 95% : [0,64-1,00]). Un seul prélèvement avait une discordance complète de résultat (Positif – Négatif) (Tableau 4). Ce coefficient et ce pourcentage sont meilleurs que ceux observés l'an dernier.

L'analyse du cas discordant complet ne permet pas de conclure, faute de sérum tardif de contrôle.

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

Autres laboratoires	CNR			Total
	Négatif	Limite	Positif	
Négatif	16 (1)	3 (0,5)	1 (0)	20
Limite	0 (0,5)	0 (1)	0 (0,5)	0
Positif	0 (0)	0 (0,5)	12 (1)	12
Total	16	3	13	32

(entre parenthèses : coefficient de pondération)

2.6 Activités de séquençage :

En 2020, comme en 2019, nous n'avons pas effectué de caractérisation moléculaire par technique classique de séquençage type Sanger des souches circulantes, mais pour des raisons différentes. Cette fois, l'activité du laboratoire coordinateur a été fortement impactée par la crise sanitaire due à l'émergence du SARS-CoV-2 et de la pandémie qui a suivi. La mise à disposition de l'équipe technique pour les activités d'urgence SARS-CoV-2 nous a forcé à limiter nos activités.

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 des tentatives d'isolement. Ces demandes d'autorisation devront être déposées ultérieurement.

3 Activités de surveillance

- Une année inter-épidémique en France métropolitaine avec seulement 27 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 2012-2019 (n=110). Le pic de détection au printemps n'a pas été observé. La médiane d'âge (40 ans) était conforme à celle attendue alors que le sexe-ratio est quintuplé (12,5).
- Pas d'extension de la zone traditionnelle d'endémie. Les foyers traditionnels d'endémie du virus Puumala ont été actifs.
- Un cas humain d'infection par le virus Seoul à Paris.
- Un cas humain d'infection par l'hantavirus Maripa dans le territoire de l'île de Cayenne.

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 2020, pour un diagnostic de laboratoire d'infection par un hantavirus, 151 échantillons seulement (147 sérums ou plasmas, 3 LCR, 1 urine) provenant de 129 patients (20 ayant eu au moins un 2^{ème} prélèvement). La moitié de ces prélèvements (49,7%) ont été adressés par des laboratoires pour un diagnostic de 2^{ème} intention (Tableau 5). L'émergence du SARS-CoV 2 et la crise sanitaire qui a suivi n'est peut-être pas étrangère à cette faible demande de diagnostic (cf § 3.5)

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

Diagnostic	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 2 ^{ème} intention = confirmation (n = 75)	Auv - Rhône-Alpes	Laboratoire Eurofins Biomnis (69)	1
	Bourgogne – Franche-Comté	CHU Dijon (21)	8
		CHRU de Besançon (25)	3
		CH Dole (39)	3
		CH Saint-Claude (39)	0
	Grand-Est	CH de Charleville-Mézières (08)	8
		CHU de Reims (51)	2
		CHRU Nancy (54)	3
		CHRU Strasbourg (67)	4
	Hauts-de-France	CH de Laon (02)	1
		CH de Saint Quentin (02)	4
		CHRU de Lille (59)	8
		CHIC Compiègne-Noyon (60)	3
		CHU Amiens (80)	1
	Ile-de-France	Laboratoire Cerba (95)	25
Nouvelle Aquitaine	CHU Bordeaux (33)	1	

Diagnostic	Origine		Effectif
	Région	Département	
de 1 ^{ère} intention (n = 76)	Auvergne – Rhône-Alpes	CH Moulins (03)	1
		CHU Saint-Etienne (42)	1
		CHU Lyon (69)	6
		CH Chambéry (73)	1
	Bretagne	CHU Rennes (35)	2
	Centre – Val de Loire	CHR Orléans (45)	3
	Grand-Est	Hôpital de Mercy – Metz (57)	1
		CH Epinal (88)	1
	Hauts-de-France	CH Lens (62)	2
	Ile-de-France	Hôpital Bichat-Claude-Bernard (75)	11
		Hôpital Cochin (75)	1
		Hôpital Robert Debré (75)	1
		Hôpital européen Georges Pompidou (75)	1
		Hôpital Necker-Enfants malades (75)	4
		Hôpital Pitié Salpêtrière (75)	1
		Hôpital Saint Antoine (75)	5
		Hôpital Saint-Louis (75)	2
		Hôpital Tenon (75)	10
		CH Versailles (78)	2
		Hôpital Ambroise Paré (92)	2
		Hôpital Raymond Poincaré – Garches (92)	3
		Hôpital L. Mourier – Colombes (92)	3
		Hôpital Bicêtre – Le Kremlin B. (94)	1
		CHU Créteil (94)	2
	Nouvelle Aquitaine	CHU Limoges (87)	2
	Occitanie	CH Perpignan (66)	1
	Provence – Alpes – Côte d'Azur	CH Cannes (06)	1
CHU Nice (06)		1	
CHU Marseille (13)		2	
Guadeloupe	CHU Pointe-à-Pitre (971)	2	

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 2020, le laboratoire associé a reçu 15 échantillons biologiques provenant de 13 patients présentant un tableau évocateur d'infection par un hantavirus du Nouveau Monde. Le nombre de demandes de diagnostic hantavirus reste faible et a encore diminué en lien avec la crise COVID.

L'ensemble des demandes de diagnostic provenaient du Centre Hospitalier de Cayenne : 40% (6/15) du service de réanimation, 46.67% (7/15) du service des maladies infectieuses, 13.33% (2/15) du service des urgences (Tableau 6).

Tableau 6 : Origine des prélèvements adressés au laboratoire associé en 2020.

Origine	Guyane	Martinique	Guadeloupe	Total
Secteur hospitalier	15	0	0	15
Centre de santé	0	0	0	0
Secteur privé	0	0	0	0
Total	15	0	0	15

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 Thailand (THAIV), et Sin Nombre (SNV) et IgG anti-PUUV, SEOV ou THAIV, et SNV + IF Ig PUUV et anti-SEOV ou THAIV], 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, 1 088 examens ont été effectués sur les 151 prélèvements testés (Tableau 7).

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	148
	SEOV ou THAIV	148
ELISA IgM	PUUV	148
	THAIV	148
	SNV	1
ELISA IgG	PUUV	148
	SEOV ou THAIV	124
	SNV	1
RT-PCR temps réel	PUUV	80
RT-PCR nichée	Hantavirus Arvicolinae	71
	Hantavirus	71
TOTAL		1 088

¹ Tous les examens n'ont pas été effectués sur les 151 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 Tous les antigènes n'ont pas été disponibles dès le début de l'année 2020 car il nous a fallu demander et obtenir Les autorisations de détention et de mis en œuvre de MOT matériel génétique et micro-organismes délivrées par l'ANSM pour le nouveau site parisien.

Sur la base des résultats de ces examens, les 129 cas suspects ont été classés dans les catégories suivantes :

- **13 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 (SEOV), confirmé virologiquement (détection de l'ARN de SEOV par RT-PCR nichée ciblant le la famille *Hantaviridae* puis identification par analyse de la séquence)**
- **13 cas d'infection récente par un hantavirus, confirmés sérologiquement (présence d'IgM et d'IgG anti-hantavirus).**
- 2 cas possibles d'infection récente par un hantavirus (présence d'IgM anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 2 cas d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus uniquement, détectés par ELISA et IF).
- 3 cas possible d'infection ancienne par un hantavirus (présence d'IgG anti-hantavirus détectées par ELISA seulement)
- 54 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)
- 41 cas avec un statut indéterminé (n'entrant pas dans les catégories précédentes)

Au final, 27 cas ont été considérés comme des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus [CCIRH] (14 virologiquement et 13 sérologiquement).

La médiane d'âge des 27 autres CCIRH est de 40,0 ans (de 11 à 77 ans) et est conforme à celles observées depuis 2012 (Tableau 8). Le sexe-ratio (M/F) de 12,5 (25 hommes et 2 femmes) est le plus élevé sur cette période (Tableau 8).

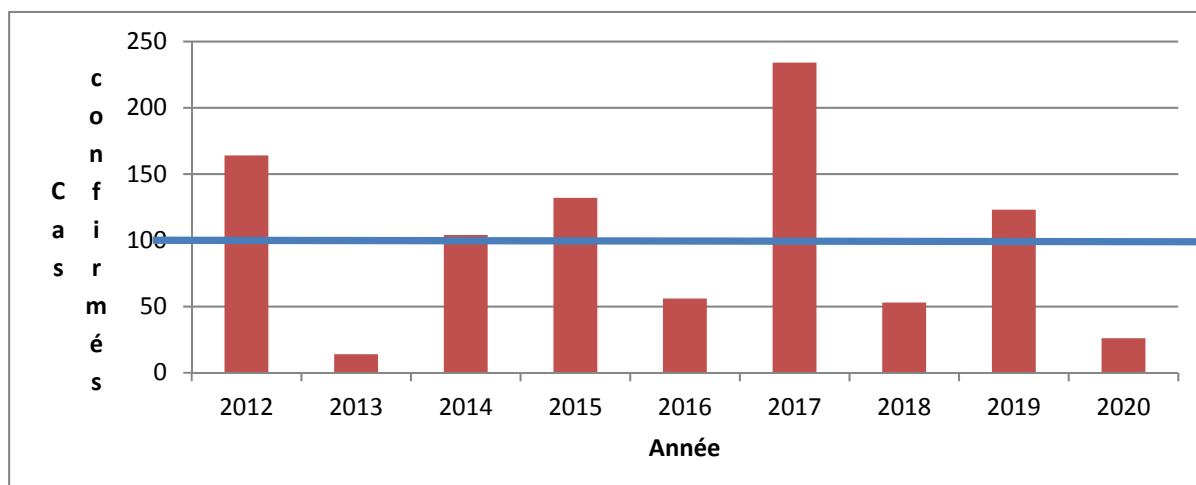
Tableau 8 : Sexe-ratio et âge médian des CCIRH résidant et exposés en France métropolitaine

Année (de prélèvement)	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Nombre de cas	164	14	104	132	56	234	53	122*	27*
Age médian	42	48,0	38,5	39,0	39,0	40,0	43,0	40,0	40,0
Sexe-ratio	3,3	2,5	4,2	2,7	2,3	2,5	2,1	5,1	12,5

* 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 2020 se trouve bien en deçà de la moyenne (trait bleu) de cas détectés (110 cas) sur la période 2012-2019 (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 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 2020 apparaît donc comme une année inter-épidémique. Néanmoins, la crise sanitaire due à l'émergence du SARS-CoV 2 a pu avoir également un impact sur le dénombrement des cas. D'abord, en le sous-estimant car la demande de diagnostic a diminué en 2020 (diminution des hospitalisations de cas suspects suite à l'occupation des lits par des patients COVID-19 ?). Ensuite, en le diminuant car le niveau d'exposition de la population a pu baisser suite au confinement de la population au printemps.

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



Le pic principal de détection habituellement retrouvé à la fin du printemps n'a pas été observé en 2020 mais le pic secondaire à la fin de l'automne était perceptible (Figure 4).

La distribution géographique selon les départements des 27 CCIRH résidant en France métropolitaine est présentée sur la Figure 5. Les données se fondent d'abord 1/ sur le lieu (commune) probable d'exposition (n=78), puis s'il n'est pas indiqué 2/ sur le lieu (commune) de résidence du patient (n=48), et enfin s'ils ne sont pas indiqués 3/ sur le département d'origine du laboratoire ayant effectué le prélèvement (n=0). Tous les cas sont situés dans le quart Nord-Est de la France classiquement touché par les infections humaines par le virus Puumala. Les foyers traditionnels d'endémie (Nord, Ardennes, Franche-Comté, Aisne et Oise) ont été actifs. (Figure 5, Tableau 9).

Figure 5 : Distribution spatiale des 27 cas confirmés d'infection récente par un hantavirus détectés en France métropolitaine en 2020 (en hachuré, les départements où des cas ont été détectés sur la période 2003-2019).

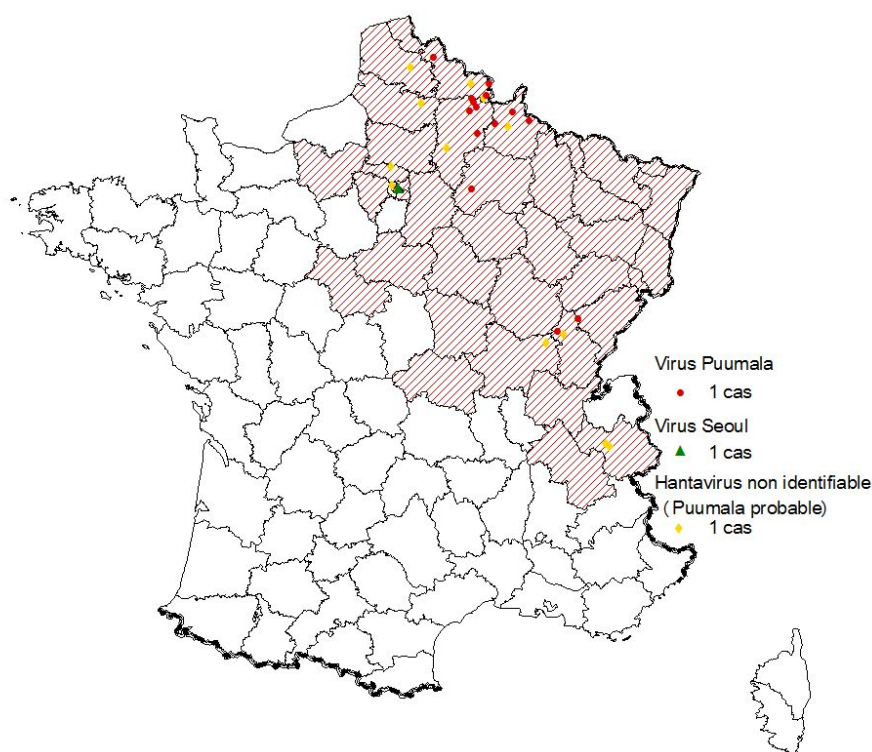


Figure 4 : Distribution mensuelle des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (vraisemblablement le virus Puumala) en France métropolitaine Janvier 2012 – Décembre 2020 (sur la base de la date de prélèvement du patient ; la ligne discontinue bleu indique la moyenne mensuelle de cas sur la période 2012-19)

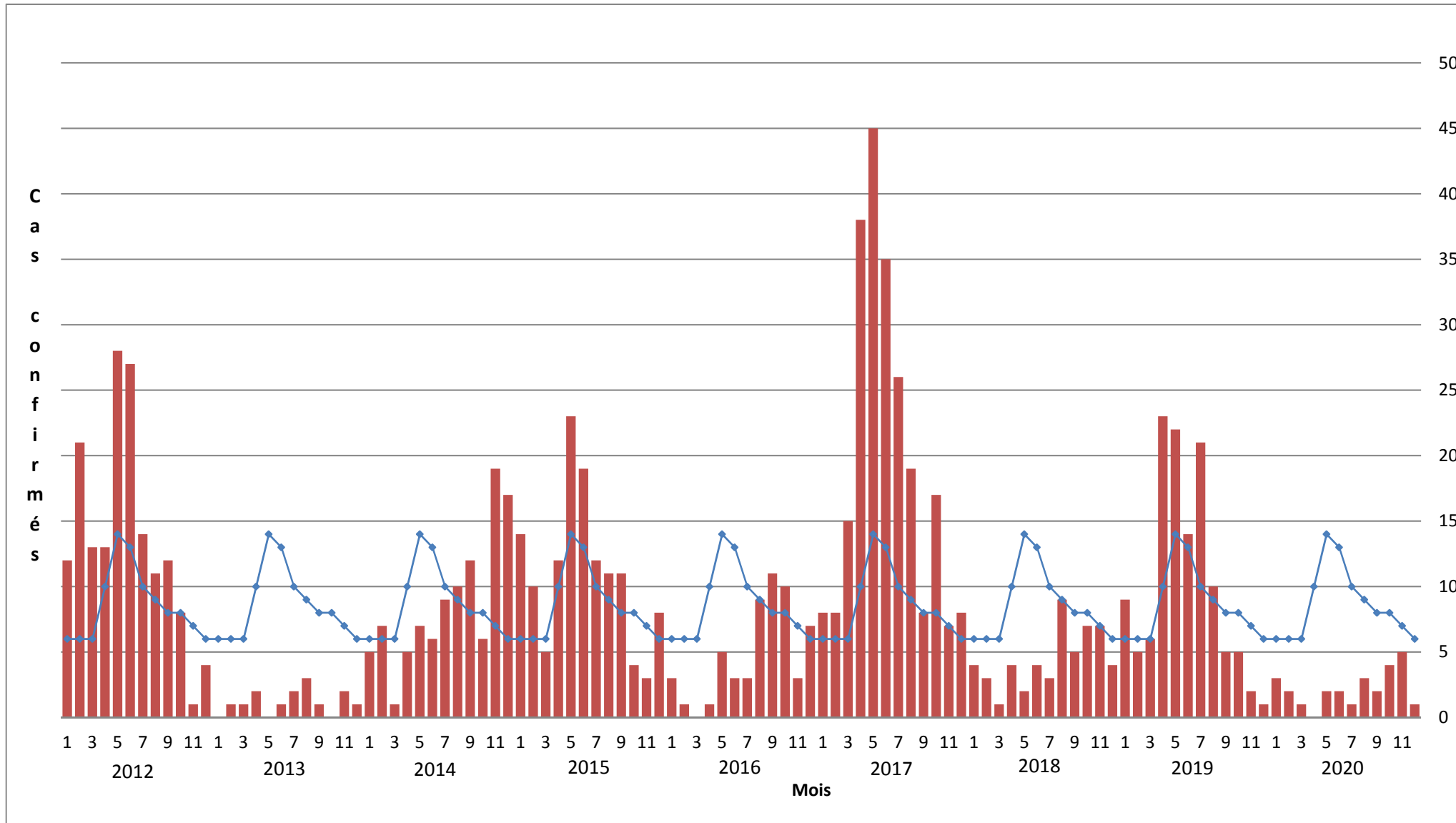


Tableau 9 : Distribution spatio-temporelle de cas confirmés d'infection récente par un hantavirus, 2020, France métropolitaine (départements avec cas détectés sur la période 2003-2020) : un cas d'infection par un hantavirus de Saône-et-Loire prélevé en décembre 2019 et détecté en 2020 est indiqué dans la colonne 2019 (« +1 »).

Région	Département	Population Municipale Décret 2019	Année																						
			2015		2016		2017		2018		2019		2020												
			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	546 527	15	2,77	20	3,70	37	6,87	16	2,97	31	5,67	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	6
	59	2 604 361	14	0,54	13	0,50	39	1,5	17	0,58	20	0,77	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	5
	60	824 503	1	0,12	2	0,25	9	1,1	3	0,24	7	0,85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	62	1 468 018	2	0,14	1	0,07	4	0,27	3	0,20	1	0,07	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	80	572 443	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Grand-Est	08	273 579	34	12,02	7	2,48	30	10,8	5	1,80	16	5,85	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	4
	10	310 020	0	0	0	0	1	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	51	568 895	11	1,93	1	0,18	5	0,87	2	0,35	3	0,53	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	52	175 640	0	0	0	0	4	2,23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	54	733 481	0	0	0	0	3	0,41	1	0,14	1	0,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	55	187 187	4	2,07	2	1,04	5	2,62	0	0	3	1,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	57	1 043 522	0	0	0	0	1	0,1	0	0	1	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	67	1 125 559	2	0,18	0	0	4	0,36	0	0	2	0,18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	68	764 030	1	0,13	1*	0,13	3	0,39	0	0	1	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Normandie	27	601 843	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ile-de-France	75	2 187 526	2(1 [†])	0,09	2	0,09	0	0	1*	0,05	0	0	0	1*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	77	1 403 997	3(1 [†])	0,22	0	0	0	0	0	0	3	0,21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	78	1 438 266	1	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	92	1 609 306	1	0,06	0	0	2	0,12	0	0	1	0,06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	93	1 623 111	1	0,06	2	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	94	1 387 926	1	0,07	0	0	0	0	2	0,15	1	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	95	1 228 618	0	0	0	0	2	0,16	0	0	2	0,16	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Centre V-de-L.	41	331 915	0	0	0	0	1	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	45	678 105	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0,59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Bourgogne-Franche-Comté	21	533 819	4	0,75	1	0,19	5	0,94	0	0	4	0,75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	25	539 067	13	2,41	1	0,19	25	4,66	1	0,19	8	1,48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	39	260 188	7	2,68	3	1,15	33	12,66	1	0,38	4	1,54	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	3
	58	207 182	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	70	236 659	10	4,21	0	0	10	4,21	0	0	3	1,27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	71	553 595	2	0,36	0	0	2	0,36	0	0	0+1	0,18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	89	338 291	1	0,29	0	0	0	0	0	0	3	0,89	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	90	142 622	1	0,69	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Auvergne Rhône-Alpes	01	643 350	0	0	0	0	2(1*)	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	03	337 988	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	38	1 258 722	0	0	0	0	4	0,32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	73	431 174	1	0,24	0	0	0	0	1	0,23	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
Total		29 538 708	132	0,45	56	0,19	234	0,79	53	0,18	124	0,42	3	2	1	0	2	2	1	3	2	4	5	1	26

† 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 2020, un cas d'infection aiguë par le virus Maripa a été identifié. La recherche systématique d'anticorps IgG anti-hantavirus n'a mis en évidence aucun cas en lien avec une infection ancienne (Tableau 10).

Le délai moyen de restitution des résultats (sérologie + détection moléculaire) a été de 4,9 jours par rapport à la date de réception au laboratoire.

Tableau 10 : Récapitulatif des résultats de diagnostic d'infection par un hantavirus, 2012 - 2020.

Année	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Echantillons reçus	15	35	14	15	15	19	18	23	16
PCR positive	0	1	0	0	1	1	0	0	1
IgM anti-SNV positive	0	1	0	0	1	1	0	0	1
IgG anti-SNV positive	NT*	NT	0	2	2	0	2	0	1
Cas aigus détectés	0	1	0	0	1	1	0	0	1

* NT = non testé

3.3 Surveillance de la résistance aux anti-infectieux

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

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Contribution à la surveillance nationale en interface avec Santé publique France

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

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

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

Comme indiqué en préambule, suite à la suspension temporaire d'activité de surveillance, ce rapport mensuel n'a pas été disponible de février à juin 2020.

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

Viral Diseases-Expert Laboratory Network) soutenu par l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) : <https://www.evd-labnet.eu/> (ce réseau est une refonte du précédent réseau ENIVD European Network for diagnostics of Imported Viral Diseases). Les objectifs de ce réseau sont en particulier de partager les connaissances sur le diagnostic et la surveillance des maladies virales émergentes. Plusieurs autres CNR hébergés par l'Institut Pasteur (CNR FHV, CNR Influenzae, et CNR Rage) ainsi que la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) de l'Institut Pasteur en sont membres. Christophe Batejat, responsable adjoint de la CIBU et correspondant Qualité du CNR Hantavirus est le point focal de l'Institut Pasteur pour ce réseau. Le contrôle qualité externe diagnostic moléculaire et sérologique des hantavirus programmé par ce réseau pour l'année 2020 a été reporté *sine die* suite à la crise sanitaire liée à l'émergence du SARS-CoV2.

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

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

Le CNR des Hantavirus est membre du Réseau International des Instituts Pasteur et collabore avec certains instituts dans le cadre du diagnostic et de l'épidémiologie des infections par hantavirus, en particulier avec Veasna Duong à l'Institut Pasteur du Cambodge, et bien sûr l'Institut Pasteur de Guyane, laboratoire associé du CNR.

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

Le CNR a continué à s'intéresser à l'origine géographique et au nombre de patients résidant en métropole prélevés pour un diagnostic de 1^{ère} intention au sein du réseau de laboratoires partenaires du CNR (CNR compris). Il s'agit de savoir si des cas suspects sont prélevés tout au long de l'année, sur l'ensemble du territoire métropolitain et dans quelle proportion.

Le nombre de demandes de diagnostic est de l'ordre de ceux observés en 2013, 2016, 2018 pour lesquelles le nombre de cas détectés étaient bien en deçà de la moyenne annuelle de cas détectés (110 cas) sur la période 2012-2019 (Tableau 11).

Les demandes restent les plus abondantes au cours de l'été. Le pic estival du pourcentage de CCIRH parmi les patients prélevés n'a pas été observé en 2020, ce qui est le cas pour les autres années inter-épidémiques (Figure 6). Il existe toujours une disparité géographique des demandes. Le pourcentage de patients prélevés en zone d'endémie reste très élevé (Tableau 11 ; Figure 7).

Tableau 11 : Caractéristiques des patients prélevés en France métropolitaine pour un diagnostic d'hantavirose 2012-2020 (données non disponibles en 2018 et 2019 pour le CHU de Reims et le CH de Saint-Quentin, qui représentent annuellement environ 5% des patients prélevés).

Année	Nombre de patients prélevés	Patients vivant en métropole 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	1 952	89% 1 741 / 1 949	12,2% 238 / 1952
2018	1 529	87% 1 335 / 1 528	3,5% 54 / 1529
2019	1 789	86% 1 538 / 1 782	7,2% 129 / 1789
2020	1403	87% 1188 / 1362	1,9% 27 / 1403

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

Figure 6 : Distribution mensuelle des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus et des cas confirmés d'infection récente par un hantavirus (sur la base de la date de prélèvement), France métropolitaine 2011 – 2020.

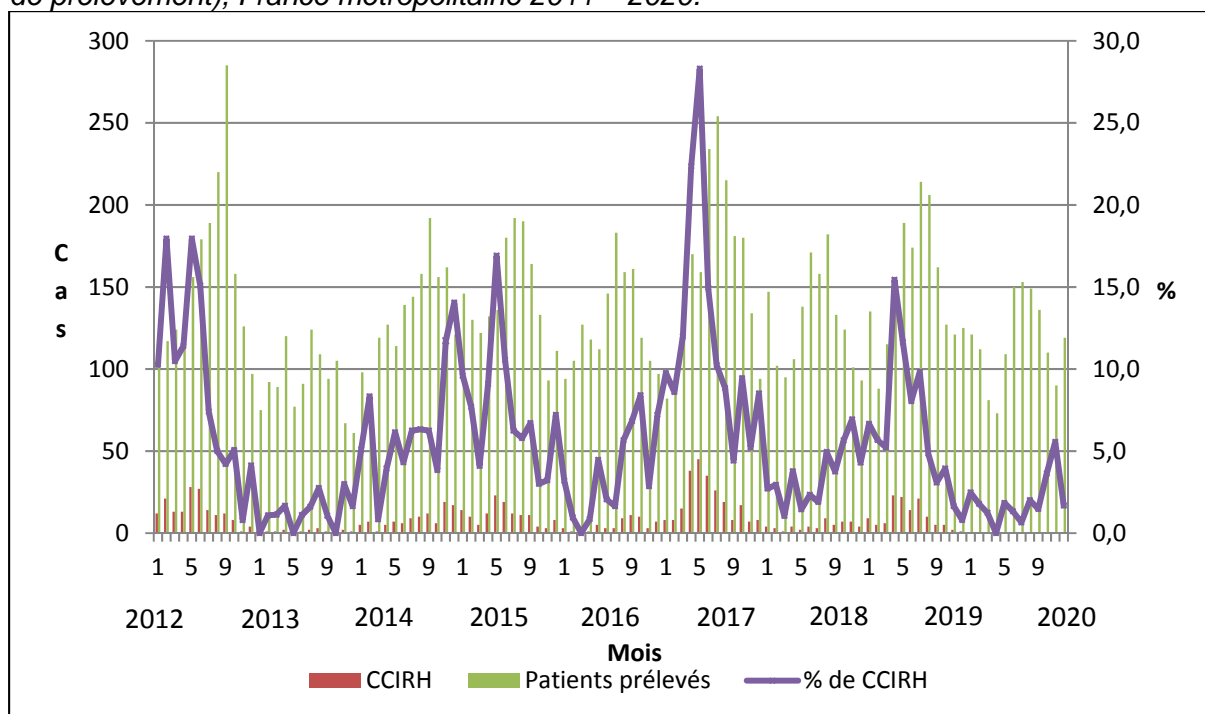
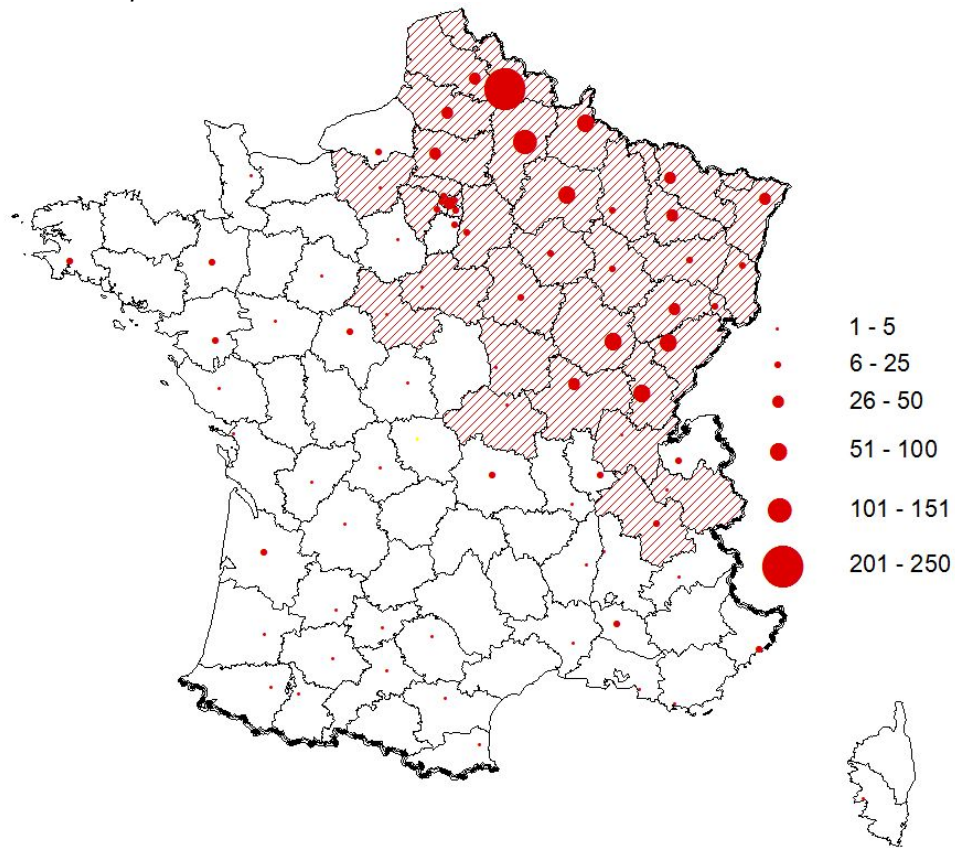


Figure 7 : Distribution spatiale en 2020 des patients prélevés pour un diagnostic d'infection par un hantavirus en France métropolitaine et par département (rond rouge par département) : A 2018 ; B 2019. La distribution se fonde sur le département du lieu de prélèvement ou sur celui du laboratoire transmetteur si le premier n'est pas connu ; en hachuré, les départements où des cas confirmés d'infection par un hantavirus ont été détectés de 2003 à 2020.



4 Alertes

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

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

Les cas d'infection par le virus Seoul (SEOV) ne sont pas fréquents et font l'objet d'une alerte. Il s'agit du 9^{ème} patient infecté par SEOV que nous détectons depuis la mise en place du diagnostic moléculaire en 2012.

Il s'agit d'un patient hospitalisé âgé de 23 ans, cuisinier, vraisemblablement exposé sur son lieu de travail dans le 10^{ème} arrondissement de Paris et malade au mois de janvier 2020. Il présentait un syndrome fébrile algique avec hématurie macroscopique, thrombopénie, insuffisance rénale aiguë et cytolysé hépatique, typique d'une infection par hantavirus et en particulier avec l'atteinte hépatique quand il s'agit du virus Seoul. L'atteinte n'a pas été sévère et le patient a bien récupéré.

Il s'agit du 3^{ème} cas détecté à Paris, après un cas en 2015 dans le 18^{ème} arrondissement et un cas en 2018 dans le 11^{ème} arrondissement.

4.2 **Détection d'un cas d'infection par le virus Laguna Negra**

Un cas d'infection aiguë par le virus Maripa chez un patient hospitalisé dans le service de réanimation du Centre Hospitalier de Cayenne pour détresse respiratoire a fait l'objet d'une déclaration en 2020. Il s'agissait d'un patient âgé de 55 ans avec des symptômes cliniques déclarés le 10/09/2020. Contrairement aux autres cas rapportés d'infection par le virus Maripa, celui-ci s'est rétabli en quelques jours sans séquelle. Il s'agit du septième cas d'infection par le virus Maripa dont quatre mortels.

Une investigation environnementale (captures de rongeurs) a également été réalisée sur deux zones (sites sur lequel le patient avait travaillé et séjourné en tant que maçon et à son domicile) où le patient avait potentiellement été en contact avec des rongeurs.

Le premier site (commune de Cayenne) correspondait à une zone très densément peuplée, d'habitations informelles de bois, imbriquées les unes dans les autres, construites sur une zone humide remblayée. L'ensemble était très insalubre. La présence de rongeurs avait été signalée par le patient. Le second site (commune de Macouria) était le lieu d'habitation du patient. La zone correspondait également à une zone d'habitat informel, mais beaucoup plus diffus, en front de mer. Les captures ont été réalisées dans un abattis abandonné d'environ 1/4 d'hectare, comprenant bambous et végétation herbacées.

Au total, 23 rongeurs ont été capturés. Seule l'espèce *Rattus norvegicus* (13 individus) qui n'est pas considérée comme potentiel réservoir du virus Maripa a été capturée sur le site de travail du patient, ceci qui n'était pas en faveur de la circulation du virus Maripa sur ce site. Sur le deuxième site (lieu d'habitation du patient), six individus appartenant à l'espèce *Zygodontomys brevicauda* (réservoir potentiel de Maripa), 3 individus du genre *Proechimys* et un rat noir (*Rattus rattus*) ont été capturés.

Les animaux ont été euthanasiés et des prélèvements d'organes (foie, rate, rein, poumon et de sang) réalisés. L'ensemble des prélèvements de poumons et reins (organes cibles des Hantavirus) ont été analysés pour la recherche du génome viral des hantavirus du Nouveau Monde (par PCR conventionnelle et nichée, Vincent et al. 2000). Aucun prélèvement ne s'est avéré positif pour la recherche du génome viral.

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

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Liste des enseignements, des formations aux professionnels de santé ;

/

Accueil de stagiaires pour le transfert de techniques

/

Liste des guides élaborés (contenu, modes de diffusion)

/

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

Rétro-information aux partenaires :

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

Information/formation :

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

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

Le site est très utile en particulier pour informer nos correspondants des conditions pré-analytiques. Les extraits des rapports des années d'exercice 2012 à 2019 y sont actuellement disponibles. Il y a eu une « explosion » du nombre de pages consultées en 2020 (près de 260% par rapport à 2019 qui était déjà un bon millésime). 93% des 16 017 consultations ont concerné la page « La maladie –Recommandations ». La consultation de ces pages n'a pas été homogène pendant l'année. Le confinement au printemps 2020 a eu du bon dans l'accès à l'information (au moins) médicale (Figure 8).

Figure 8: Distribution du nombre de pages du site Web du CNR des Hantavirus consultées au cours de l'année 2020



Concernant le laboratoire coordonnateur, au moins deux postes téléphoniques fixes (secrétariat et responsable du laboratoire coordonnateur) peuvent être joints pendant les heures ouvrables. En dehors des heures ouvrables, un message donne les numéros de

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

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

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

Activités de conseil aux professionnels de santé :

Le laboratoire coordonnateur a enregistré 16 prestations de conseil par téléphone, email ou courrier:

- il a été sollicité en pré-analytique pour savoir si une suspicion d'infection par un hantavirus pour un patient était justifiée (n=3) et/ou précisé les conditions pré-analytiques (n=5).
- il y a eu également 1 sollicitation analytique (demande du CH de Laon concernant des fournisseurs de contrôle de qualité interne et externe pour les examens sérologiques).
- les 4 sollicitations post-analytiques nous ont amenés à commenter des comptes rendus de résultats d'examens (choix des antigènes, cinétique virale et des anticorps, autre étiologie possible).
- il y a eu enfin 3 questions qui ont porté sur la conduite à tenir en cas d'infestation du logement par des souris (n=1), et sur des présentations cliniques compatibles ou non avec une infection par un hantavirus (n=2).

Le laboratoire associé a enregistré deux prestations de conseil en lien avec l'expertise hantavirus au cours de l'année 2020. Une de ces prestations concernait une information sur les signes cliniques en lien avec l'infection à Hantavirus et l'autre concernait les lieux d'expositions potentiels du cas humain identifié cette année (cliniciens du CH de Cayenne).

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

/

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

- Entretien avec la journaliste Morgane Garnier chez Doctissimo, site web d'information sur la santé pour l'élaboration d'une fiche Hantavirus et révision du document mis ensuite en ligne : <https://www.doctissimo.fr/sante/zooses/hantavirus-symptomes-transmission-diagnostic-traitement>
- Entretien avec la journaliste indépendante Dora Laty pour la rédaction d'une fiche Santé sur les Hantavirus destiné au site Web de Santé-Magazine et révision du document mis ensuite en ligne : <https://www.santemagazine.fr/sante/fiche-maladie/hantavirus-872126>

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

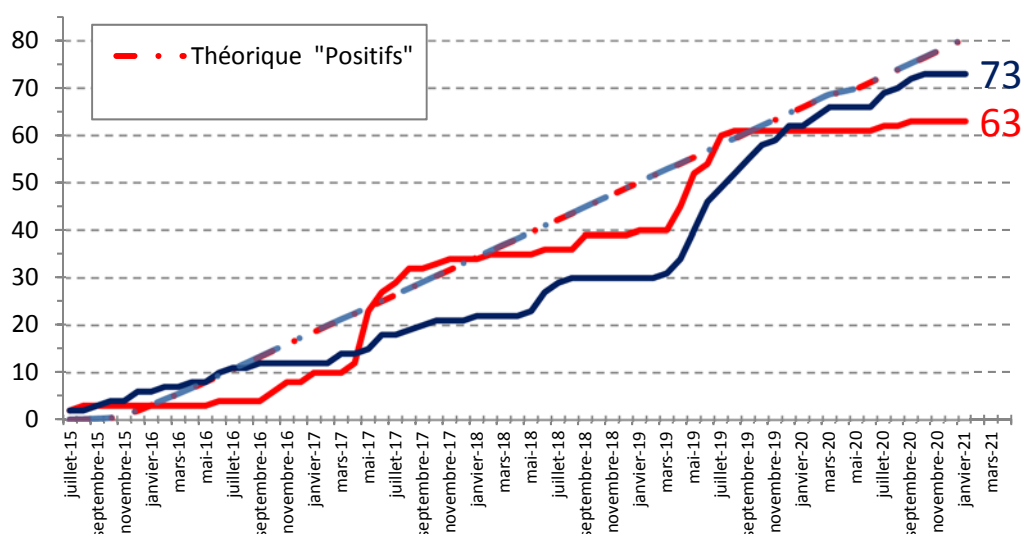
6.1 PHRC-N HANTADIAG (labo. coordonnateur)

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

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

Si l'année 2019 nous avais permis de rattraper partiellement un retard dans nos inclusions, l'année 2020 a été catastrophique en termes d'inclusions avec seulement 5 cas suspects inclus (Figure 9). La crise sanitaire qui a suivi l'émergence du SARS-Cov-2 a bouleversé l'organisation des centres investigateurs transformés pour la majorité en unité « COVID-19 ». En fin d'année, 136 sujets inclus (soit 85% de l'effectif théorique au moins 80 cas et 80 non cas). La période d'inclusion avait été prolongée jusqu'à la fin décembre 2021. Nous espérons atteindre nos objectifs d'inclusion d'ici là sans avoir à prolonger à nouveau cette période.

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



6.2 Recherche d'infection par le virus Nova

Nous allons étudier en 2020 les relations sérologiques croisées entre le virus Nova et les autres hantavirus circulant en France métropolitaine. Si elles sont nulles ou faibles, nous rechercherons par IF et ELISA des anticorps dirigés contre ce virus Nova dans notre collection de prélèvements humains testés négatifs pour les autres virus afin d'identifier ou non des cas d'infection par ce virus, non connu actuellement pour être zoonotique.

L'hantavirus Nova (NVAV) du genre *Mobatvirus* est le 4^{ème} hantavirus détecté en France métropolitaine après les virus Puumala, Seoul et Tula (Gu SH et al., *Epidemiol Infect* 2014). Sa description est récente, comme celles de la très grande majorité des hantavirus associée à des mammifères autres que des rongeurs. Ce virus a été détecté chez la taupe européenne (*Talpa europaea*) d'abord en Hongrie (Kang HJ et al., *PLoS One* 2009), puis en Pologne (Gu SH et al. *Infect Genet Evol* 2014), et est très répandu en Belgique (Laenen L et al. *Genome Announc* 2015). Aucun cas d'infection humaine par ce virus n'a encore été décrit (mais il faut dire que c'est une étiologie rarement recherchée). Les taupes sont très abondantes en France métropolitaine et les expositions aux excréments de ces animaux chez les personnes qui manipulent la terre ne doivent pas être négligeables. Est-ce que des cas suspects d'infection par un hantavirus pourraient être dus à ce virus ?

Dans le cadre de nos activités de diagnostic et de confirmation de diagnostic, nous avons testé régulièrement les échantillons reçus par une RT-PCR nichée pan-hantavirus permettant de détecter les hantavirus associés aux mammifères. Le seuil limite de détection de cette technique est seulement 10 fois plus fort que les techniques de diagnostic moléculaire spécifique que nous utilisons pour détecter les virus zoonotiques, comme le virus Puumala en particulier. Cette technique permet de détecter également NVAV. Elle a été utilisée pour rechercher un hantavirus dans 897 sérums de patients suspects d'hantavirose mais aucun virus Nova n'a été détecté alors que les virus Seoul, Dobrava-Belgrade et Tula ont pu l'être.

Nous avons également sélectionné les sérums disponibles de patients ayant donné leur consentement pour une utilisation secondaire de leur échantillon dans le cadre de la recherche, et pour qui une infection par un hantavirus avaient été exclue sur la base de tests sérologiques (dont l'immunofluorescence IF) utilisant les antigènes Puumala ou Seoul (ou Thailand) représentatifs des virus zoonotiques présents en France. Fin 2020, 160 sérums provenant de 121 patients (il y avait plusieurs sérums pour 31 patients) ont été testés par IF sur des cellules Vero E6 infectées ou non par NVAV. Les résultats ont été positifs pour les sérums de 3 patients et limites pour ceux de 13 autres. Un test de séroneutralisation doit être effectué pour confirmer ces résultats et conclure ou non à une preuve sérologique d'infection par le virus NVAV.

Nous avons également étudié par immunofluorescence les réactions sérologiques croisées d'hantavirus détectés chez des patients en France métropolitaine, en testant des sérums de patients infectés par les hantavirus Puumala, Tula, Seoul ou Dobrava-Belgrade vis-à-vis de cellules infectées par les virus Puumala, Tula, Seoul et Nova. Alors que sur la base des résultats de phylogénie moléculaire, parmi les hantavirus associés aux mammifères, NVAV est l'hantavirus le plus éloigné des hantavirus zoonotiques, nous avons été surpris de voir que les anticorps de patients infectés par un des virus zoonotiques reconnaissent les antigènes NVAV. Nous n'avons pas pu malheureusement voir si des anticorps anti-NVAV reconnaissent les antigènes de ces virus zoonotiques, car nous ne disposons pas de sérum d'animal ou de patient infecté par ce virus. On retrouve bien en étudiant ces réactions sérologiques croisées la parenté entre PUUV et TULV puis SEOV et DOBV (Tableau 12).

L'introduction de l'antigène NVAV dans notre panel d'antigènes utilisés pour les tests sérologiques n'a donc pas d'intérêt, du fait de ces réaction sérologiques croisées (cet antigène ne permettrait pas de reconnaître spécifiquement les infections par NVAV).

Tableau 12 : Relations sérologiques croisées (immunofluorescence) entre les virus détectés en France métropolitaine

Anticorps anti-	Jours d'évolution	Titre homologue	Antigène			
			PUUV	TULV	SEOV	NVAV
PUUV	6	1024	1024	1024	128	128
	28	8192	8192	1024	256	1024
TULV	4	2048	4096	2048	512	1024
	204	1024	1024	1024	128	512
SEOV	10	512	64	128	512	128
	80	1024	256	256	1024	512
DOBV	11	16384	512	64	16384	<64
	218	8192	512	512	8192	1024
NVAV	Non testé	Non testé	Non testé	Non testé	Non testé	Non testé
	Titre homologue				2 fois moins que titre homologue	
	2 fois moins que titre homologue				2 fois moins que titre homologue	
	4 fois moins que titre homologue				2 fois moins que titre homologue	

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

- Publications nationales

/

- Publications internationales

Rabemananjara HA, Raharinosy V, Razafimahefa RM, Ravalohery JP, Rafisandratantsoa JT, Andriamandimby SF, Rajerison M, Rahelinirina S, Harimanana A, Irinantenaina J, Olive MM, Rogier C, Tordo N, Ulrich RG, Reynes JM, Petres S, Heraud JM, Telfer S, Filippone C. Human Exposure to Hantaviruses Associated with Rodents of the Murinae Subfamily, Madagascar. *Emerg Infect Dis.* 2020 Mar;26(3):587-590.

Serris A, Stass R, Bignon EA, Muena NA, Manuguerra JC, Jangra RK, Li S, Chandran K, Tischler ND, Huiskenon JT, Rey FA, Guardado-Calvo P. The Hantavirus Surface Glycoprotein Lattice and Its Fusion Control Mechanism. *Cell.* 2020 Oct15;183(2):442-456.e16.

- Communications orales nationales

/

- Communications orales internationales

/

- Communications affichées nationales

/

- 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 (Centre de Biologie pour la Gestion des Populations, INRAE à Montpellier, et en 2020 avec le laboratoire Systématique, Evolution, Biodiversité au Museum National d'Histoire Naturelle à Paris).

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 sauvages en Guyane.