

Diversité moléculaire de Puumala en France

Guillaume Castel

Réunion Rongeurs - 16/09/2014



INRA

IRD



cirad

Sup

Agro

Montpellier



- Famille : *Bunyaviridae*
Genre : Hantavirus

- Zoonose transmise par le campagnol roussâtre (*M. glareolus*)
- Hôte présent partout en France mais les cas humains ne sont trouvés que dans le quart Nord-Est.
- Peut causer des fièvres hémorragiques à syndrome rénal (HFRS)
- Pas de vaccin ou de traitement disponible (dans l'UE)



INRA

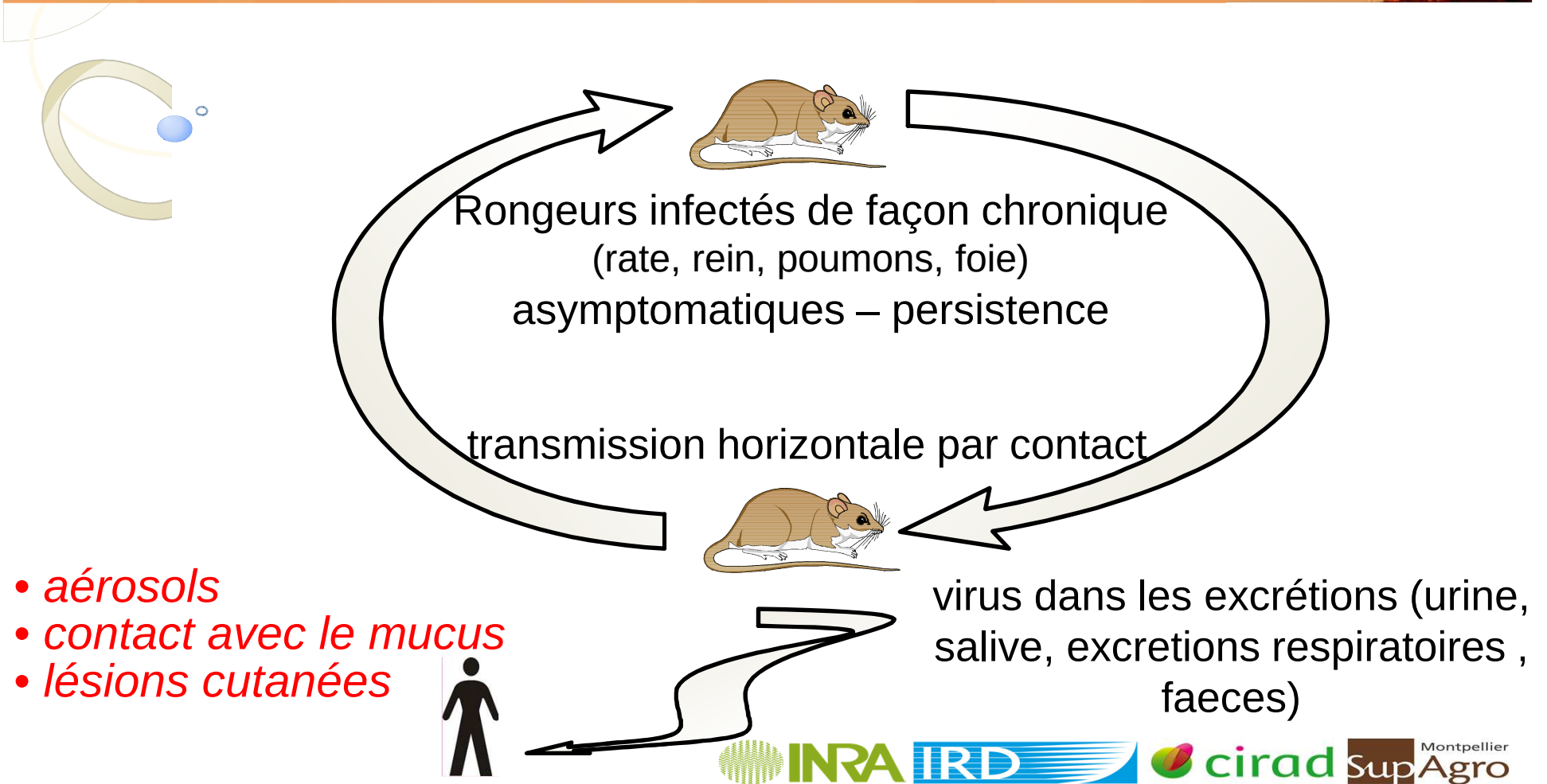
IRD

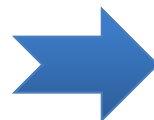
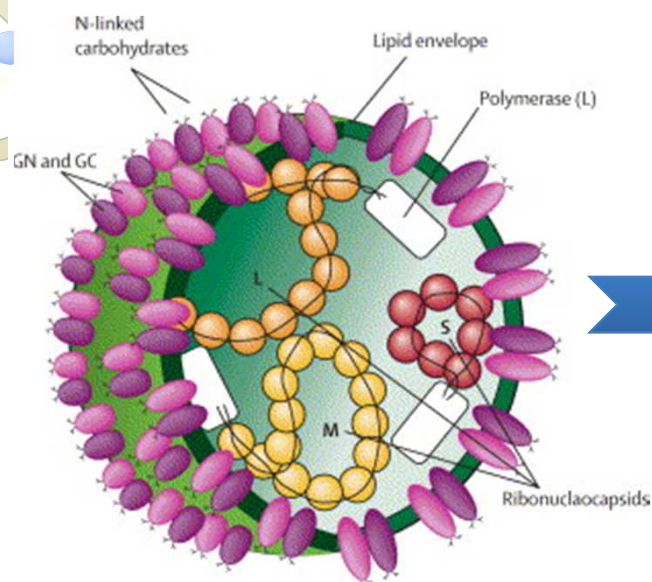


cirad

Sup

Agro Montpellier





Segment	Taille (nt)	Protéines exprimées
 L (large)	~ 6 500	ARN polymérase ARN-dépendante ~ 240 kDa
 G1 G2 M (médium)	~ 3 600	Glycoprotéine G1 ~ 70 kDa Glycoprotéine G2 ~ 55 kDa
 NS _s S (small)	~ 1 900	Nucléoprotéine N ~ 50 kDa ? Protéine non structurale NS _s ~ 10 kDa

Génome : ARN (-) segmenté (3 segments)



INRA IRD



cirad



Montpellier
SupAgro



Carte de répartition du campagnol roussâtre en France (données INPN-MNHN, *Inventaire national du Patrimoine naturel*, site Web : <http://inpn.mnhn.fr>)

Corrélation entre nombre élevé de cas humains et prévalence élevée chez les campagnols

l'inverse n'est pas vrai !

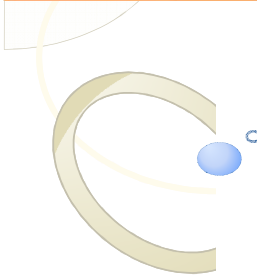
Cas hu
200

5-
10-
20-5
50-10
100-200

> 200

- Présence certaine
- Présence probable
- Absence probable ou certaine
- Absence liée à une disparition avérée
- Pas d'information
- Pas de données



- 
- PUUV est présent en France en régions endémiques et périendémique (cas humains)
 - Données sérologiques disponibles mais toujours peu de connaissances sur la diversité génétique des souches françaises



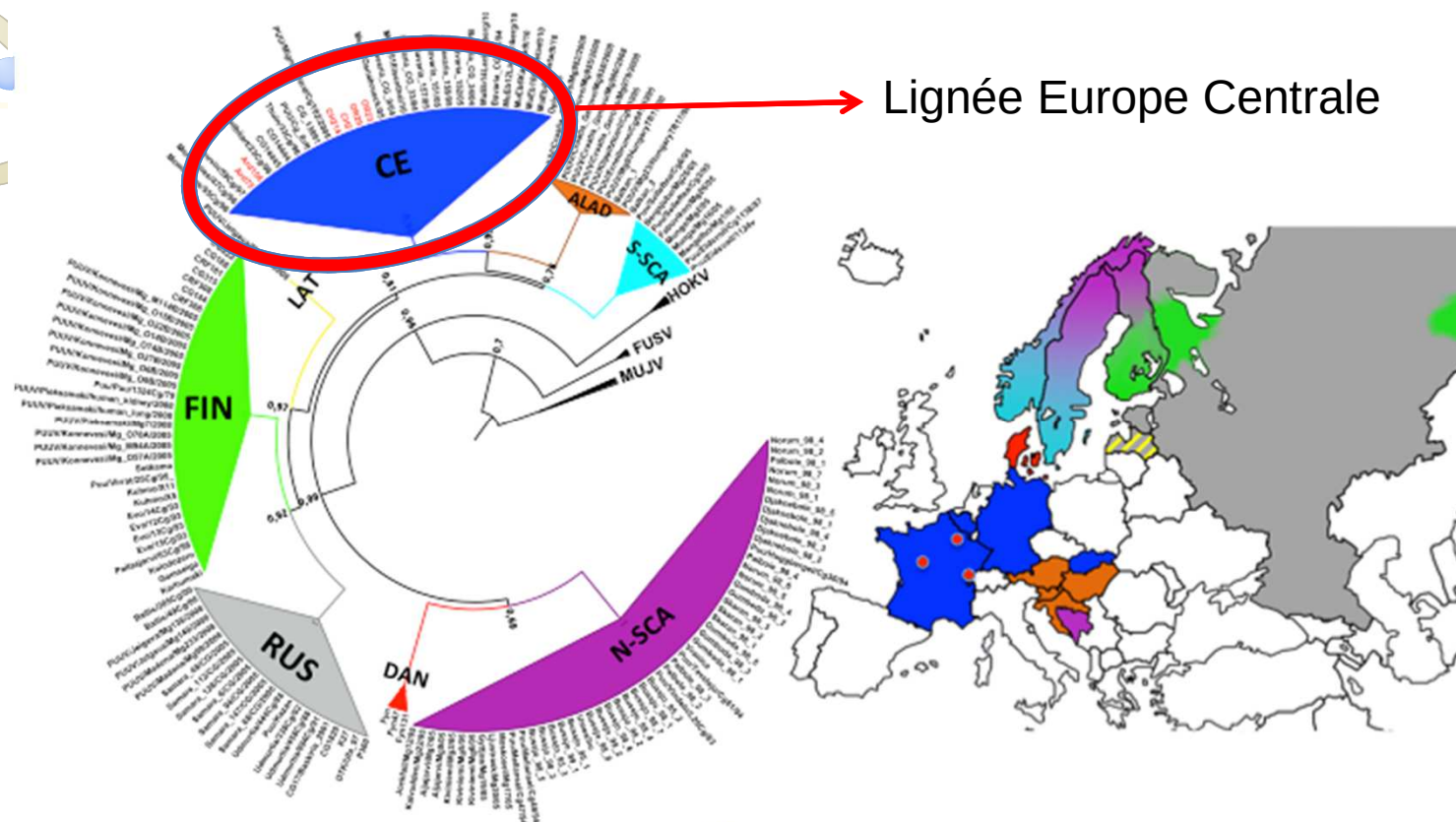
Echantillonnage dans trois régions : Ardennes, Franche comté and Orléans



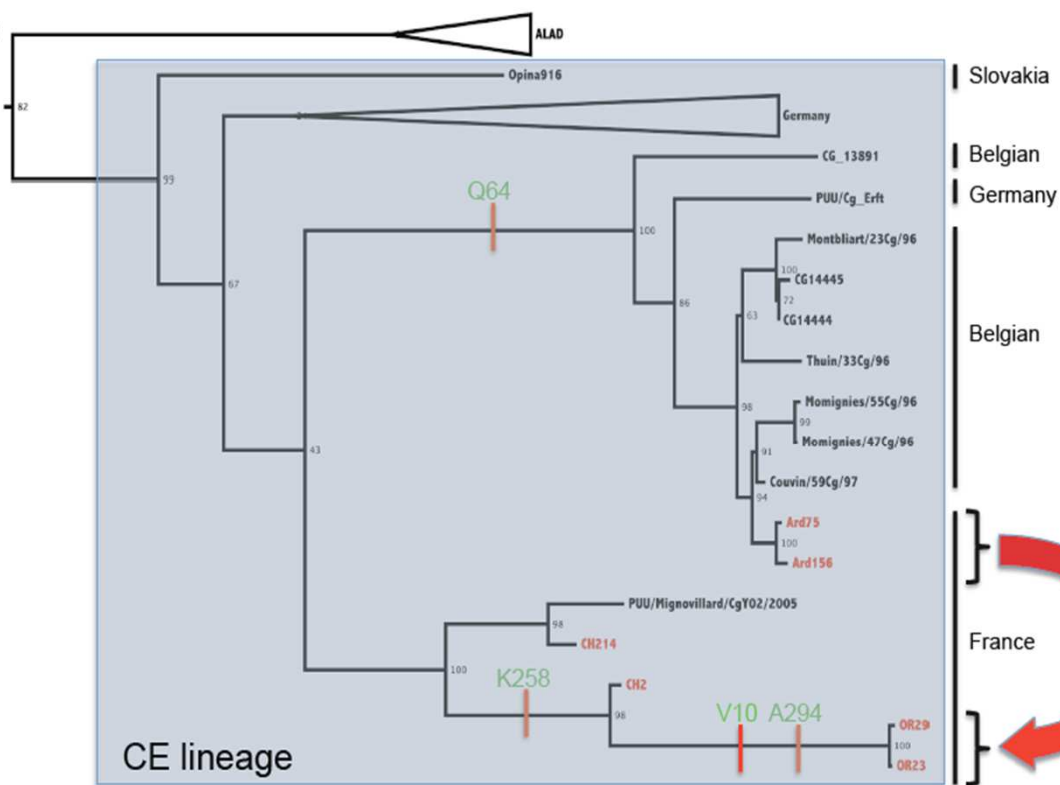
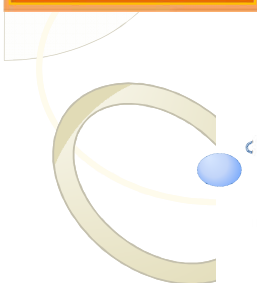
Sérologie, PCR, séquençage des segments S et M complets

**INRA****IRD****cirad****Sup**Montpellier
Agro

CBGP Les souches françaises dans la phylogénie des PUUV



✓ Segment S complet



➤ Les souches d'Orléans et de Franche Comté n'ont pas la signature aa des souches Belges !

Genet dist =
15% (nt) and
3% (aa)



INRA

IRD

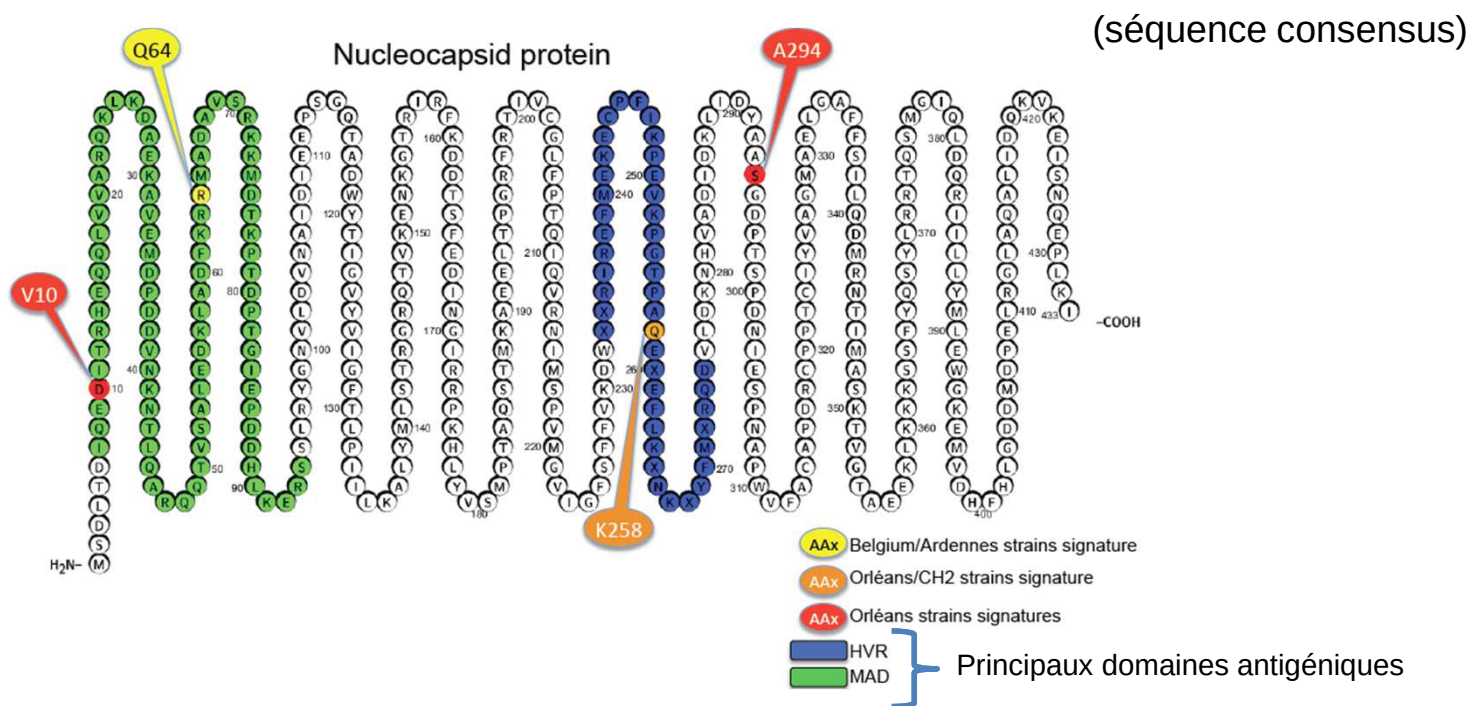


cirad



SupAgro

Montpellier



INRA

IRD



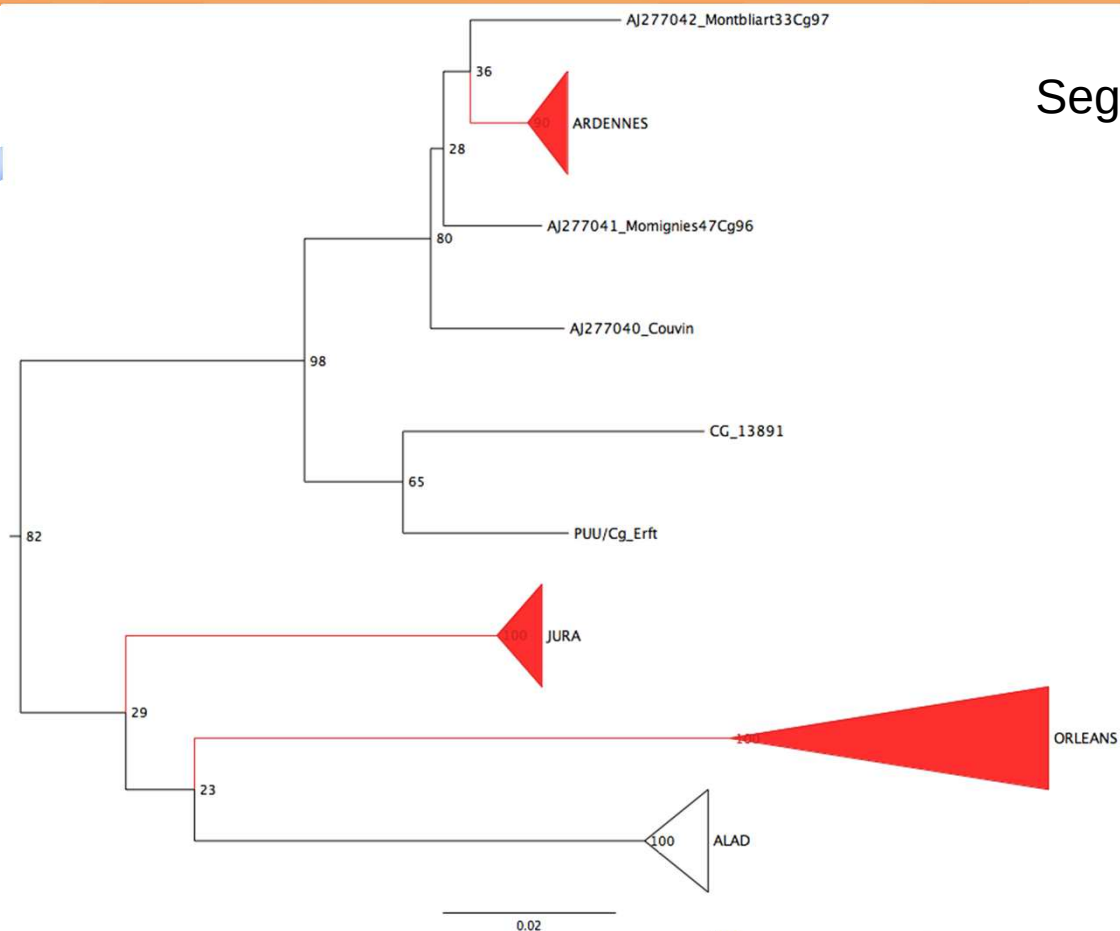
cirad

SupAgro

Montpellier

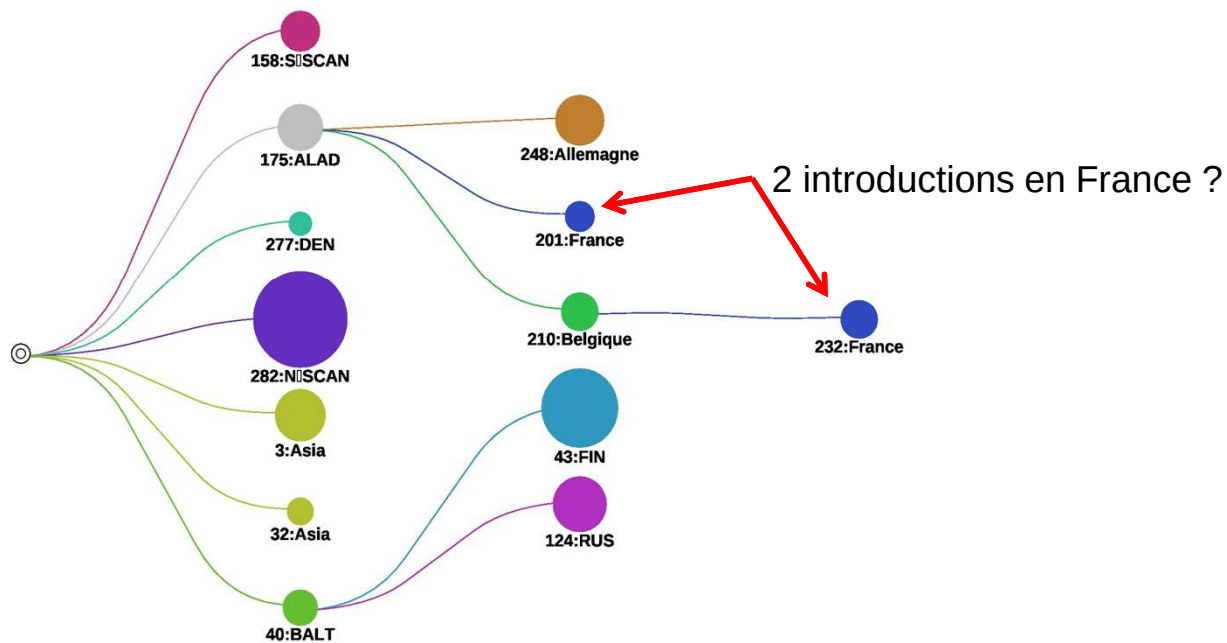


Segment M (600 nt)





- Encore controversée
- CE et ALAD partagent un ancêtre commun (Plyusnina 2007)
- Reconstruction des aires géographiques ancestrales par le logiciel PhyloType (Chevenet et al, 2013).



→ Cohérent avec approches Bayésiennes (Beast)



INRA

IRD

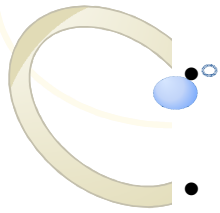


cirad

Sup

Agro

Montpellier



- PUUV est très stable et évolue lentement comparé aux autres virus ARN (Sironen 2001)
- La protéine N est sous forte sélection négative (Razzauti 2013)



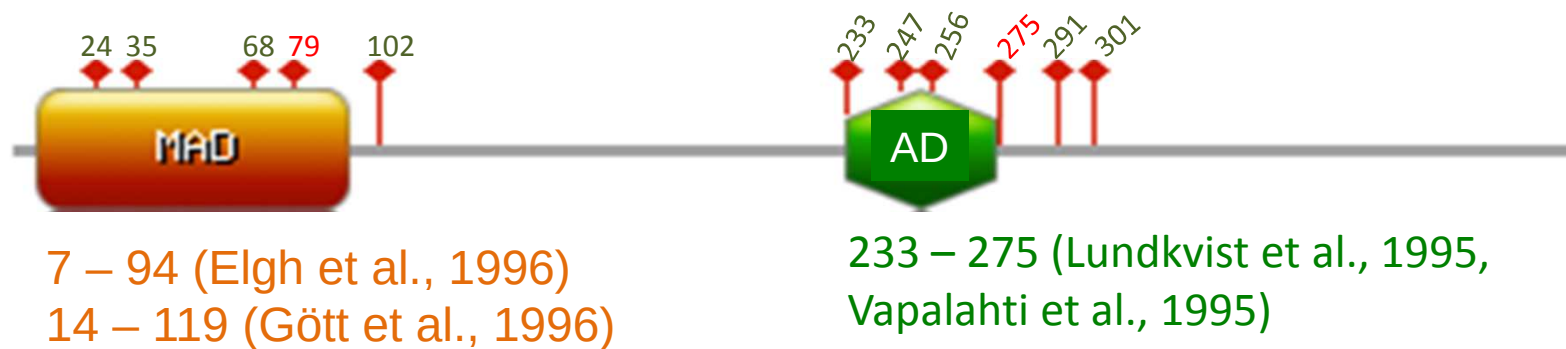
Analyse du dataset par différentes méthodes disponibles sur le serveur DataMonkey (SLAC, FEL, iFEL, FUBAR et MEME)



- Forte sélection négative (82% à 84% des sites)
- 2 sites sont trouvés comme évoluant sous **sélection positive** et 9 sous **sélection positive épisodique**



- La protéine N est très antigénique (Elgh et al., 1996, Lundkvist et al., 1995, Vapalahti et al., 1995)



- Les sites prédits comme soumis à sélection positive sont principalement situés dans des domaines antigéniques connus
- Suggère un rôle du système immunitaire de l'hôte



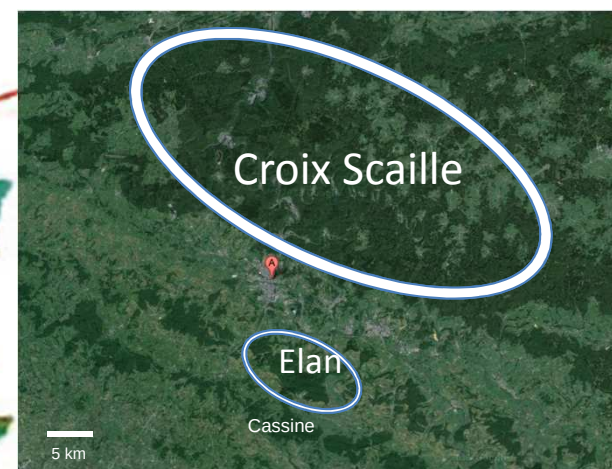
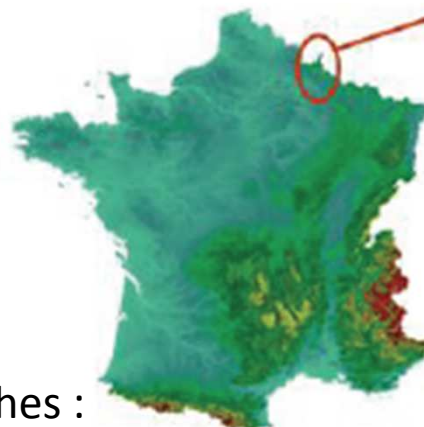
➤ Influence des paysages sur la séroprévalence des rongeurs (Guivier 2011)



Impact sur la diversité génétique de PUUV dans ces forêts ?



- ✓ Piégeages sur 10 ans dans 2 forêts proches : Croix Scaille (étendue, cas humains répertoriés) et Elan (petite, pas de cas humains répertoriés)
- ✓ Sérologies
- ✓ PCR + séquençage des segments S(400 bp)



INRA

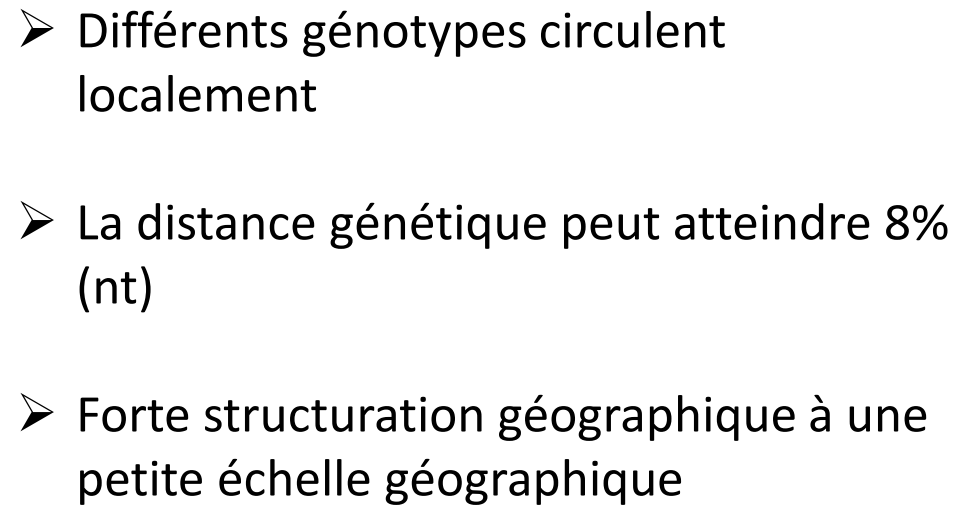
IRD



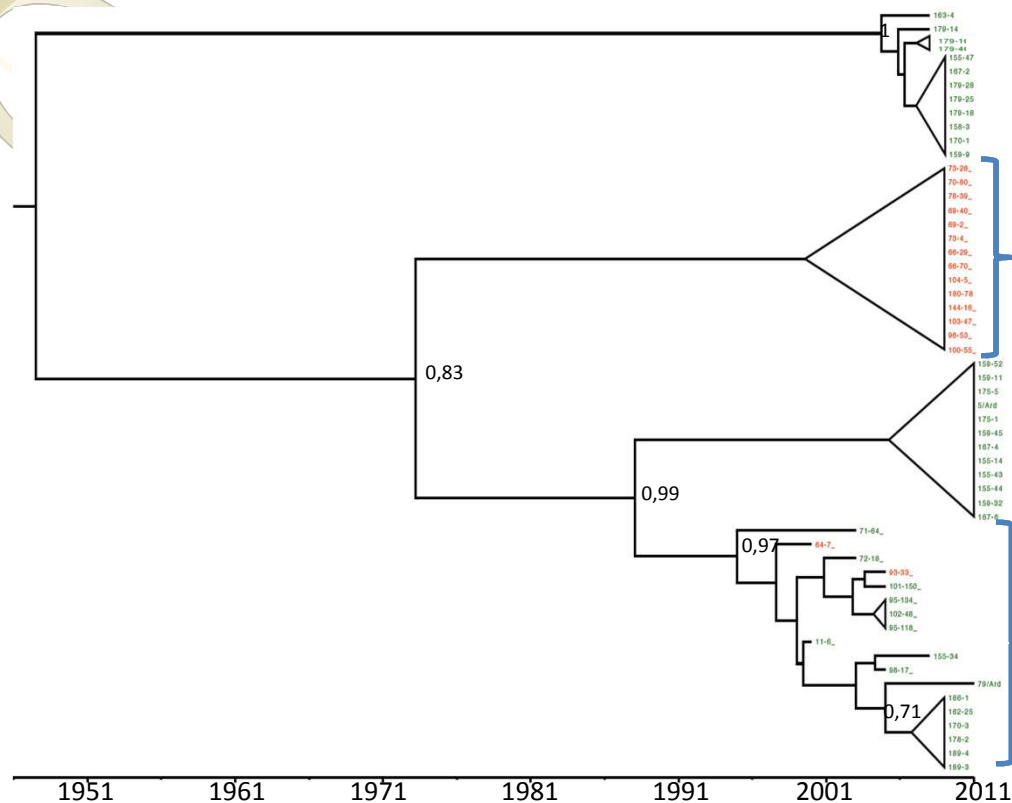
cirad

Sup

Montpellier
Agro



CBGP Microévolution de PUUV dans les forêts de CS et d'Elan



Même génotype observé de 2000 à 2009

➤ CS: diversification élevée

➤ Elan: diversification faible

Multiple génotypes proches observés de 2000 à 2011



INRA

IRD

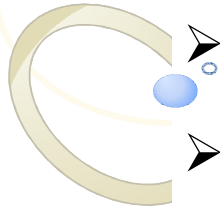


cirad

Sup

Agro

Montpellier



- Les souches françaises sont divisées en 2 « génogroupes »
- Ancêtre originaire des pays de la zone Alpes – Adria ?
- Plusieurs aa appartenant aux domaines antigéniques de la protein N semblent évoluer sous sélection positive
- Les souches françaises montrent une forte structuration géographique
- Le paysage forestier influence la diversité génétique de PUUV



INRA

IRD

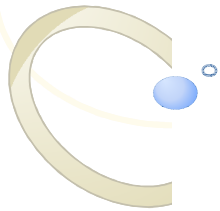


cirad

Sup

Agro

Montpellier



- Nouvelles séquences de zones péri-endémiques (Orléans)
 - Analyse de la diversité génétique intra-hôte dans les 2 types de zones
 - Mise en place d'un suivi sur le long terme près d'Orléans et dans les Ardennes
 - Analyse de séquences humaines
- Recherche des facteurs génomiques et/ou écologiques et/ou sociologiques impactant la distribution et la transmission de PUUV en France

**INRA****IRD****cirad****Sup****Agro** Montpellier



CBGP

- M Razzautti
- JF Cosson
- N Charbonnel

Virology Unit, Anses, Lyon

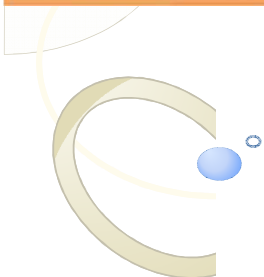
- P. Marianneau
- S. Murri
- M. Couteaudier

Unité des Stratégies Antivirales, Institut Pasteur, Paris

- N. Tordo
- C. Fillipone
- C. Jallet

Haartman Institute, University of Helsinki

- Alexander Plyusnin



Merci pour votre attention !