



PALADIN

PuumALA Diversity & evolution

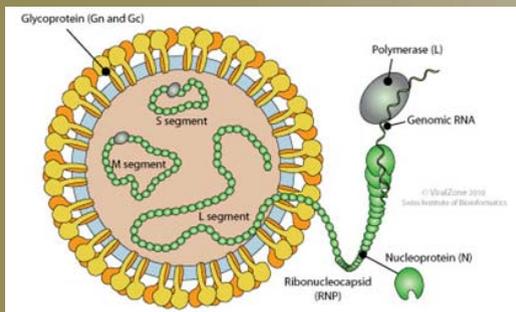


En bref

- **AAP 2017 « Projet de recherche exploratoire » du labex CEMEB**
 - **Caractère exploratoire / prise de risque**
 - **Aspect structurant pour la communauté**
- **Collaboration entre 3 unités : CBGP – MIVEGEC – Unité de Virologie, Anses Lyon**
- **Juin 2018 – décembre 2019**

Contexte

Orthohantavirus Puumala (PUUV)



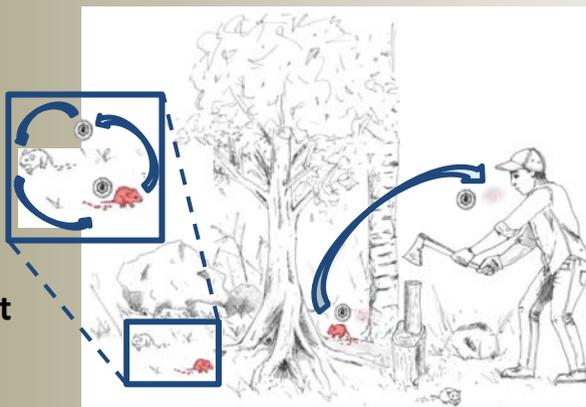
Reservoir = *Myodes glareolus*



Cycle de transmission

Entre rongeurs

- Infection chronique et asymptomatique

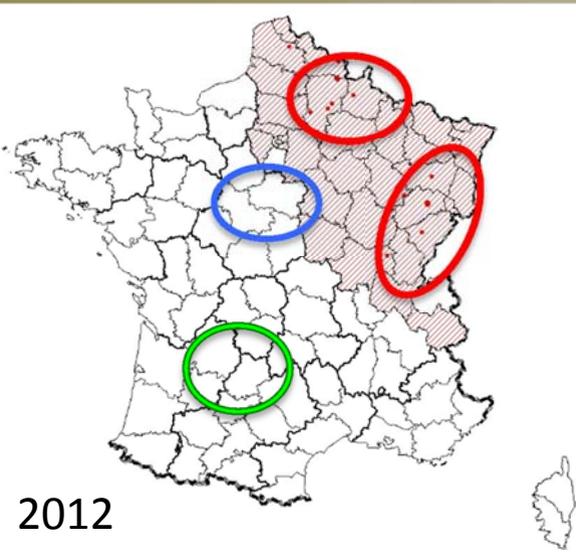


À l'Homme

- Néphropathie épidémique (NE)

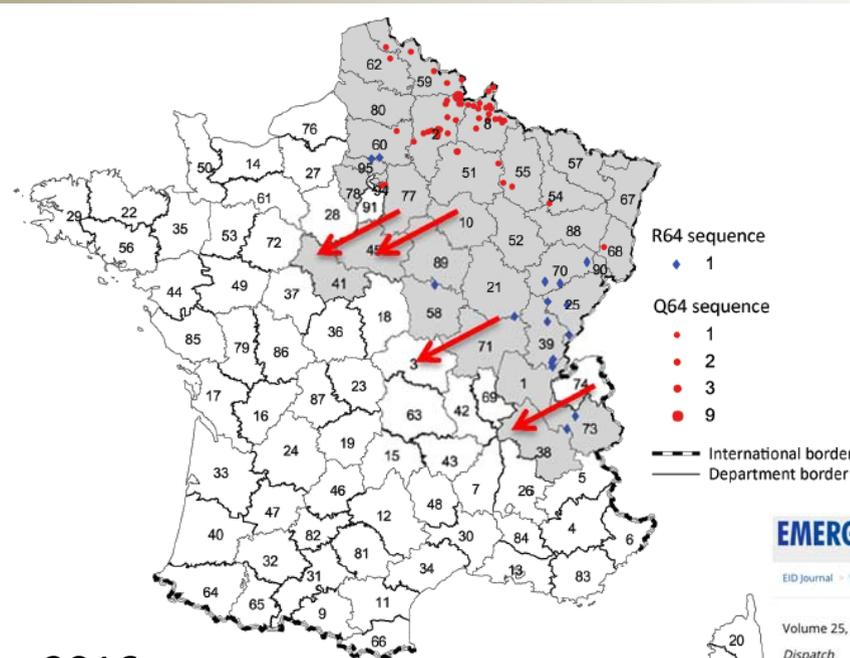
Contexte

- Extension de la NE en France
- Nouveaux cas dans des zones non endémiques pour la NE
- Manque de données chez les rongeurs dans ces zones
- Plusieurs « sous-lignées » de PUUV



2012

- Cas humains + virus chez les campagnols
- Pas de cas humains + virus chez les campagnols
- Pas de cas humains et pas de virus chez les campagnols



2016

EMERGING INFECTIOUS DISEASES*

EID Journal - Volume 25 - Number 1—January 2019 - Main Article
 Volume 25, Number 1—January 2019
 Dispatch
 Puumala Hantavirus Genotypes in Humans, France, 2012–2016
 Jean-Marc Reynes^{1,2}, Damien Carli, Damien Thomas³, and Guillaume Castel

Le projet

Objectif : Mieux comprendre l'évolution et la diversité actuelle du virus Puumala (PUUV) en France

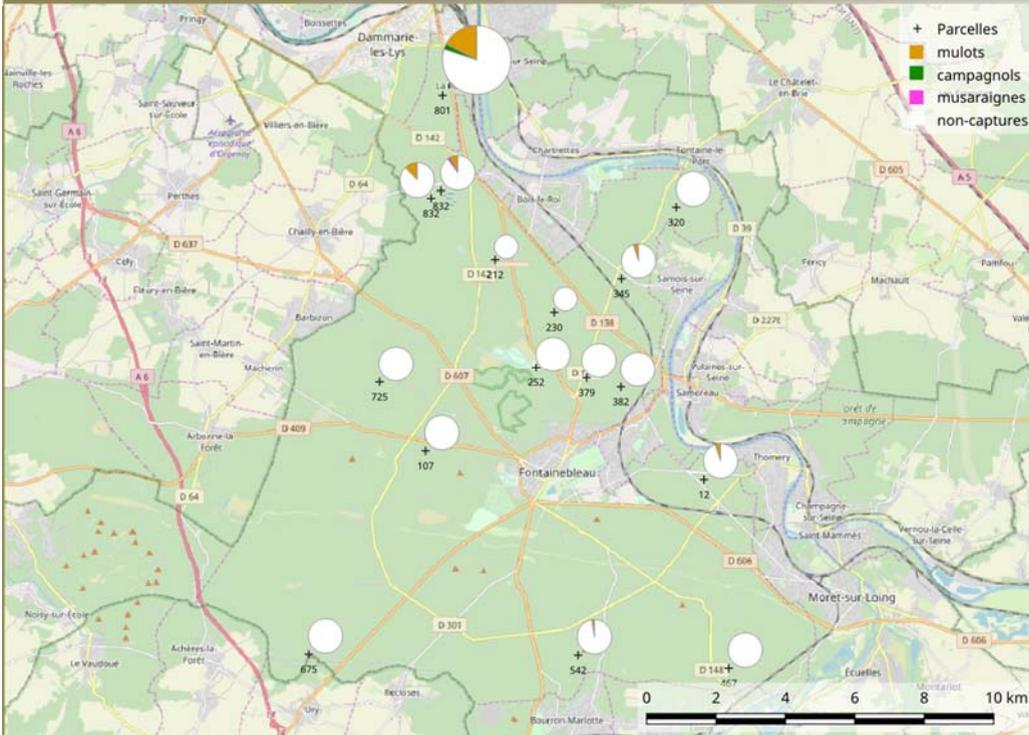
- Echantillonnage, étude de la prévalence et séquençage des souches dans des zones situées entre des régions où PUUV circule chez le campagnol mais jusque là non explorées
- Analyse de la diversité génétique à l'échelle inter et intra-populationnelle et à l'échelle intra-hôte
- Recherche des liens évolutifs entre les différentes sous lignées françaises
- Mise au point et test d'un nouveau logiciel de reconstruction des caractères ancestraux (PastView)
- Intégration des nouvelles séquences dans l'analyse phylogéographique de PUUV en France / Europe de l'Ouest

Le projet

3 Workpackages :

- 1) Echantillonnage, sérologie et extraction des ARNs viraux
- 2) Séquençage et analyse de la diversité génétique virale
- 3) Phylogéographie et développement du logiciel PastView

WP 1: Fontainebleau (sept 2018)



Bilan de la semaine de piégeage:

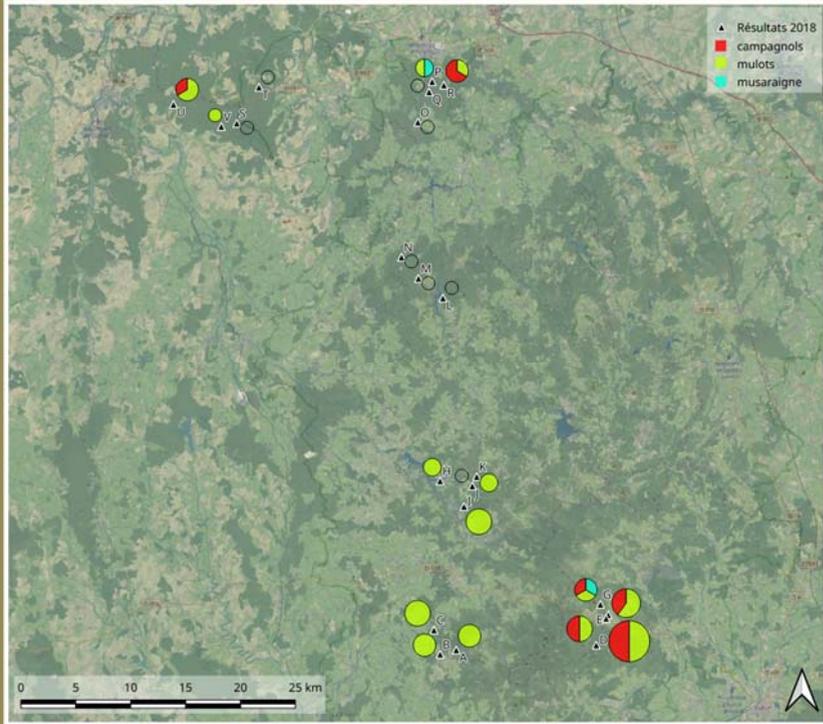
- Sécheresse importante en 2018
- 4 campagnols capturés dont deux morts dans les pièges (800 nuits/pièges)
- Aucun séropositifs



→ Coût du campagnol (séronégatif) > 1200€



WP 1: Morvan (oct 2018)

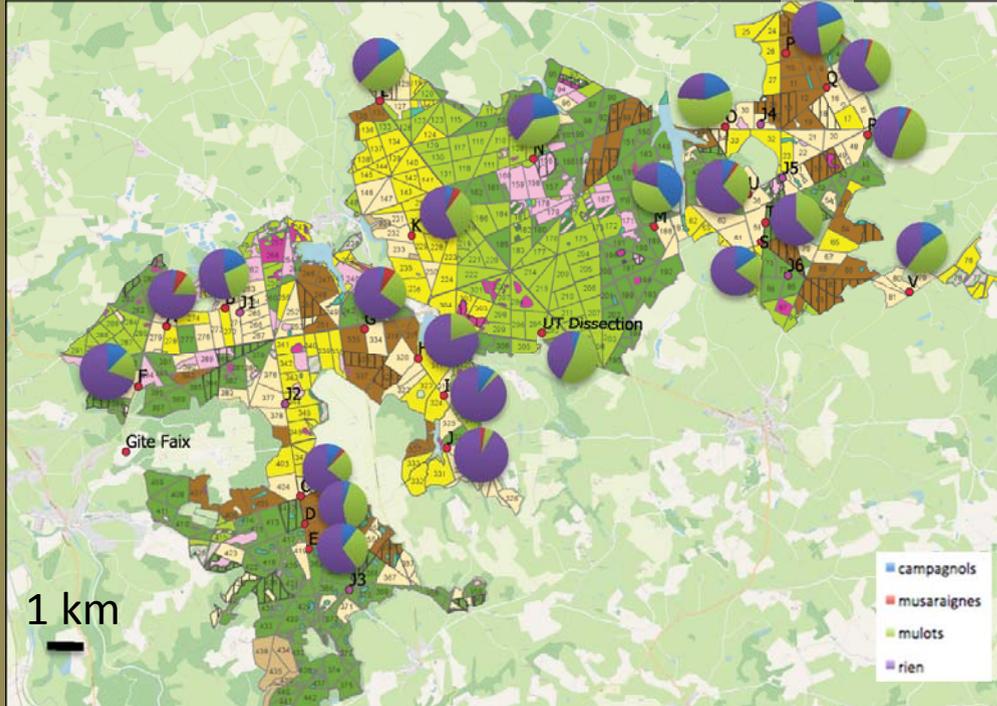


Bilan de la semaine de piégeage:

- 13 campagnols capturés (10 dans la partie sud)
- 3 séropositifs dans le sud du massif
- 1 souche séquencée (segment S) en Sanger, 2 autres en cours (Illumina / Minion)



WP 1: Tronçais (sept 2019)



Bilan de la semaine de piégeage:

- 71 campagnols capturés
- Sérologie en cours (62 individus)
- ...



WP 2: Séquençage et analyse de la diversité génétique virale

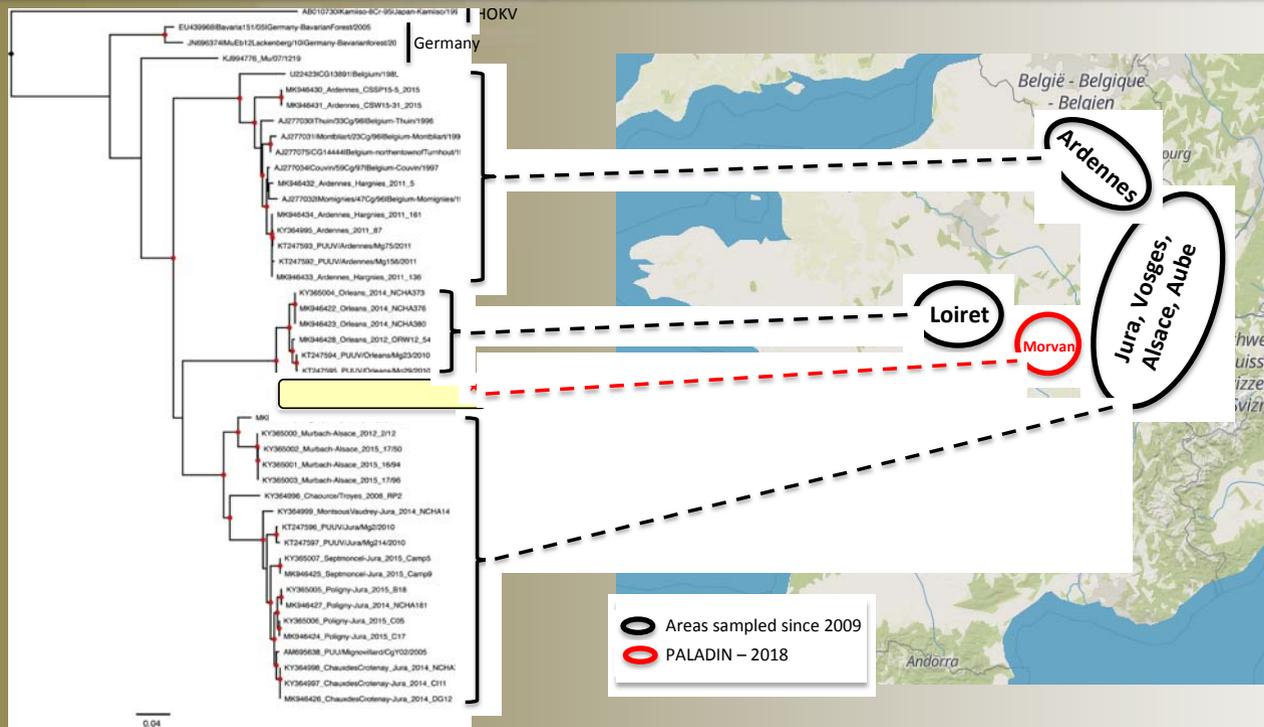
1) Séquençage Sanger des souches isolées:

- segment S (segment M et L ?)
- Actualisation de la phylogénie des souches françaises
- Actualisation de la liste des signatures AA spécifiques de chaque sous-lignée
- Recherche de zones génomiques sous sélection

2) Séquençage MiSeq:

- caractérisation, quantification, comparaison des diversités génétiques intra-hôtes.

WP 2: Séquençage et analyse de la diversité génétique virale



→ L'isolat trouvé dans le Morvan est proche de ceux du Loiret (non endémique)

→ Il est génétiquement très proche de celui retrouvé chez le seul patient contaminé dans cette zone (2012) ★

WP 2: Séquençage et analyse de la diversité génétique virale

		Amino-acids signatures on N protein					
		64	79	233	258	294	305
Isolates	Ardennes	Q	T	A	Q	S	A
	Jura/Vosges/Alsaces/Aube	R	T	T	Q	S	S
	Morvan	R	T	A	K	S	S
	Loiret	R	A	A	K	A	S

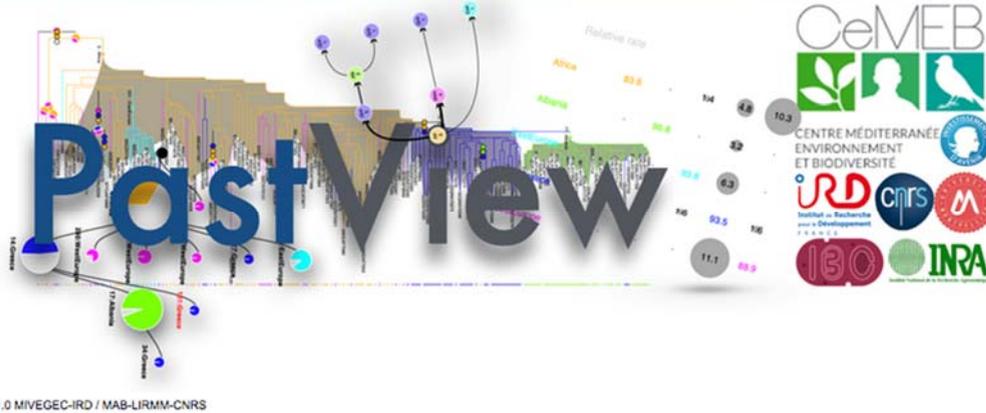
→ L'isolat du Morvan possède une des trois signatures AA caractéristiques de la sous-lignée du Loiret (non endémique)

WP 3: Phylogéographie de PUUV et développement de PastView

- 1) Développement et test du logiciel PastView sur le dataset Puumala (bonne structure géographique)

- 2) Analyses phylogéographiques sur le dataset actualisé
 - échelle de la France et de l'Europe
 - Comparaison avec analyses bayésiennes (logiciel BEAST)
 - Détermination des routes de dissémination de PUUV en France
 - Liens évolutifs entre les différentes sous-lignées françaises

WP 3: Phylogéographie de PUUV et développement de PastView



Chevenet et al. *BMC Evolutionary Biology* (2019) 19:163
<https://doi.org/10.1186/s12862-019-1490-4>

BMC Evolutionary Biology

SOFTWARE

Open Access

PastView: a user-friendly interface to explore ancestral scenarios

François Chevenet^{1,2*}, Guillaume Castel³, Emmanuelle Jouselin³ and Olivier Gascuel^{2,4}



- Téléchargement: <http://pastview.org/>

- Portail web (en cours de développement): <http://web-mab.lirmm.fr/pastview/pastviewweb/>

WP 3: Phylogéographie de PUUV et développement de PastView

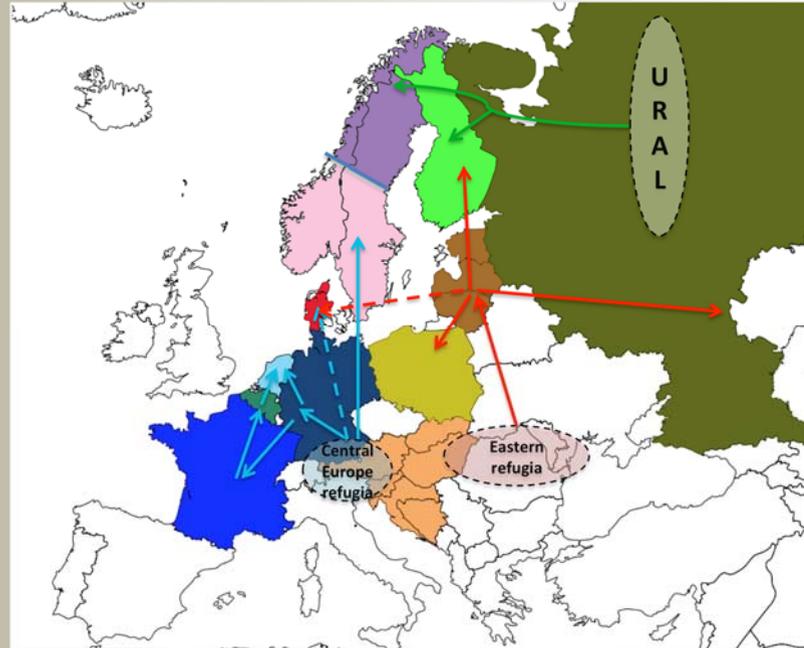


Article
Phylogeography of Puumala orthohantavirus in Europe

Guillaume Castel ^{1,*}, François Chevenet ^{2,3}, Maria Razzauti ³, Séverine Murri ⁴,
 Philippe Marianneau ⁴, Jean-François Cosson ⁵, Noël Tordo ^{6,7} and Alexander Plyusnin ^{7,†}

- La phylogéographie des souches françaises de PUUV est compatible avec la recolonisation post-glaciaire par le campagnol roussâtre.

- Leur ancêtre proviendrait de la région Alpe-adriatique et aurait d'abord colonisé l'Allemagne puis la France.



- Alpe-Adria region (ALAD)
- Asia
- Belgium (Bel)
- France (Fra)
- Germany (Ger)
- Netherland (Net)
- Denmark (Den)
- Finland (Fin)
- Baltic countries (Balt)
- Poland (Pol)
- North-Scandinavia (N-Sca)
- Russia (Rus)
- South-Scandinavia (S-Sca)

Conclusion et perspectives

- De nouveaux isolats de PUUV ont été détectés pour la 1ère fois dans la forêt du Morvan, une zone non endémique pour la NE.
- Cet isolat est très proche génétiquement des isolats de la région non endémique du Loiret et correspond à la souche isolée chez le seul patient du Morvan en 2012.
- Les études phylogéographiques à l'échelle Européenne ont permis d'établir un scénario de l'histoire évolutive de PUUV jusqu'à son arrivée en France.
- Une fois l'échantillonnage terminé, les éventuelles nouvelles séquences seront intégrées au dataset « France ».
- Des analyses phylogéographiques plus fines (échelle française) seront menées afin de préciser les liens existant entre les souches issues des différentes régions endémiques et non endémiques

Remerciements



- Laure Benoit
- Anne Loiseau
- Sylvain Piry
- Emmanuelle Artige
- Philippe Audiot
- Nicolas Leménager
- Nathalie Charbonnel
- Maxime Galan
- Caroline Tatar
- Sarah Madrières
- Julien Pradel



- Séverine Murri
- Johann Vulin
- Sandra Lacote
- Philippe Marianneau



- François Chevenet



- Agence Ile de France Est
- UT Avallonnais-Morvan
- UT Tronçais
- UT ORLEANS
- UT Vitry aux loges
- Agence des Ardennes

Labex CEMEB

