

Épidémiologie/virus et environnement

Judi 23 mars 2017, 15 h 45-17 h 00

Modérateurs : Stéphan Zientara & Sandra Martin-Latil
Communications orales O28 à O33
Affiches P61 à P69, P90 à P92, P98

O28

Viru influenza D : un nouvel Orthomyxovirus avec un large spectre d'hôtes et une circulation à l'échelle planétaire

Mariette Ducatez¹, Elias Salem, Justine Oliva, Gilles Meyer
¹ IHAP, Université de Toulouse, ENVT (IHAP), INRA UMR1225,
31076 Toulouse, France
<m.ducatez@envt.fr>

Des études récentes aux USA et nos travaux préliminaires en France ont permis l'identification d'un nouveau genre nommé Influenza D dans la famille des *Orthomyxoviridae*. Notre étude a pour but d'évaluer le risque d'émergence du virus influenza D, et plus particulièrement d'évaluer l'étendue géographique de l'agent pathogène, son spectre d'hôte, et son pouvoir pathogène. Nous avons détecté et isolé le virus influenza D chez des veaux présentant des signes cliniques respiratoires en France. Nous avons pu reproduire l'infection en conditions expérimentales et montrer que D/bovine/France/5920/2014 se transmet non seulement par contact direct mais également par voie aéroportée chez le veau.

Le virus influenza D a été détecté en Amérique du Nord (États-Unis et Canada) et en Asie (Chine et Japon). Nous avons évalué la séroprévalence du virus en Europe (France, Luxembourg et Irlande) et en Afrique (Maroc, Togo, Bénin, Côte d'Ivoire et Kenya). Le virus circule principalement chez les bovins (2 à 80 % de séropositifs en fonction des pays ; 38-70 % en France selon les régions), mais également chez les petits ruminants (1 à 10 % de séropositifs en France ; 0 à 2 % en Afrique de l'Ouest). Des anticorps anti-influenza C et/ou D ont été détectés chez la très grande majorité des dromadaires kenyans testés (98 %, n = 293), suggérant pour la première fois la susceptibilité de cette espèce aux virus influenza C/D. Des études complémentaires sont en cours pour comprendre les réactions croisées influenza C/D ainsi que pour identifier la nature des virus influenza chez les camélidés. Nos données mettent en évidence une circulation très importante du nouvel agent pathogène chez les bovins, deux modes de transmission, un spectre d'hôtes large, et la présence du virus sur les continents européen et africain. La transmission inter-espèces d'agents pathogènes au sein du réservoir animal et vers l'homme constitue un risque majeur d'émergence avec un impact important en santé animale et santé publique. Ce virus, détecté chez le porc, les bovins, les petits ruminants, les camélidés, se réplique chez le furet, modèle animal de choix pour l'étude des virus influenza chez l'homme, suggérant une infection possible de l'homme. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour évaluer : i) la présence du virus influenza D dans la faune sauvage ; ii) la diversité génétique et antigénique du virus chez ses différentes espèces hôtes ; iii) le lien entre clinique et virus influenza D ; et iv) la présence du virus chez l'homme.

O29

Variabilité et phylogénie des souches d'herpesvirus humains 6 intégrés aux chromosomes humains (iciHHV-6A et -6B) en France

Pascale Bonnafous, Meriadeg Le Gouil, Dimitri Loureiro,
Emilie Guillemainault, Joël Gozlan, Henri Agut, Agnès Gautheret-Dejean.
Sorbonne Universités, UPMC, CIMI-Paris UMRS CR7, Inserm U1135,
Équipe 1 PVI, Hôpitaux universitaires La Pitié-Charles Foix, AP-HP,
Paris, France, Université Pierre et Marie Curie (UPMC)-Paris VI, 83
boulevard de l'Hôpital 75013 Paris, France
<agnes.gautheret@aphp.fr>

Objectifs. Il a été estimé récemment qu'environ 1 % de la population mondiale hébergeait, dans toutes ses cellules, du génome d'herpesvirus humain 6, entier ou partiel, intégré à un chromosome (iciHHV-6A ou -6B). Cette présence est le résultat d'un ou plusieurs événements d'intégration au niveau des télomères d'un chromosome d'une cellule germinale, transmise ensuite de génération en génération. Notre étude a comparé la diversité génétique de souches HHV-6 et iciHHV-6 extraites de différents prélèvements cliniques en France, par séquençage de deux gènes. Le but était de : (i) déterminer la répartition des différents sous-types ; (ii) définir des signatures des formes intégrées ; (iii) analyser les arbres phylogénétiques afin de proposer des hypothèses d'origine et d'évolution de ces diverses souches.

Méthodes. L'ADN de HHV-6 a été extrait à partir de prélèvements de 164 patients d'hôpitaux français et un américain. Les souches iciHHV-6 (n = 80) ont été déterminées par qPCR sur follicules pileux/phanères (Gautheret-Dejean *et al.* 2002), FISH sur caryotype et/ou analyse longitudinale des charges virales. Les gènes codant l'ADN polymérase et/ou la gB (U38 et U39 respectivement) ont été séquencés pour 82 souches (46 iciHHV-6, 21 HHV-6, 15 non déterminées). Les séquences de 10 souches de laboratoire et de 34 souches référencées dans GenBank ont été ajoutées pour construire des arbres phylogénétiques en maximum de vraisemblance à l'aide du logiciel Mega 7.

Résultats. Les souches HHV-6 (n = 60) étaient majoritairement du HHV-6B (93 %) alors qu'on retrouvait presque autant d'iciHHV-6A (44 %) que d'iciHHV-6B (56 %). La variabilité totale était de 7,3 % pour U39 et 6,6 % pour U38, la variabilité intra-espèce étant plus faible (1,8 à 2,6 %). Les 20 souches d'iciHHV-6B avaient la même séquence U39 et deux séquences très proches d'U38, également partagées par toutes les souches iciHHV-6B provenant de patients européens ou américains mais différente des deux souches asiatiques connues. Les 29 iciHHV-6A étaient plus variables, avec sept séquences différentes d'U39 et huit d'U38, retrouvées parmi d'autres souches à travers le monde. Des signatures ont pu être établies pour les iciHHV-6A mais pas pour les iciHHV-6B, quelques souches HHV-6B étant génétiquement identiques. Les arbres phylogénétiques montraient un regroupement des souches intégrées, les souches HHV-6A et -6B étant plus variables mais néanmoins proches des premières.

Conclusion. La moindre variabilité des iciHHV-6 pourrait refléter un ou quelques événements d'intégration dans les cellules germinales très anciens, suivis d'une co-évolution avec le génome humain. Elles pourraient être la source des HHV-6 répliquatives, génétiquement proches et possédant également des séquences télomériques. Le séquençage d'autres souches étrangères, notamment africaines et asiatiques, permettrait d'affiner les hypothèses d'évolution des HHV-6.

O30

Prévalence de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine et les virus des hépatites chez les personnes incarcérées en France

Laure Izquierdo^{1,2,3}, Guillaume Mellon⁴, Céline Buchailet⁵,
Catherine Fac⁵, Marie-Pierre Soutière², Coralie Pallier²,
Anne Dulioust⁴, Anne-Marie Roque-Afonso^{1,2,3}

¹ Physiopathogénèse et traitement des maladies du foie, Centre de recherche Inserm UMRS1193, Hôpital Paul Brousse, 12 av. Paul Vaillant-Couturier, 94804 Villejuif, France

² Service de virologie, Hôpital Paul Brousse, Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), 12 av. Paul Vaillant-Couturier, 94804, Villejuif, France

³ Université Paris-Sud, Université Paris-Sud-Paris XI, 63 rue Gabriel Péri, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

⁴ Établissement public national de santé de Fresnes (EPSNF), allée des Thuyas, 94260 Fresnes, France

⁵ Unité de consultations et de soins en ambulatoire (UCSA), Maison d'arrêt de Fresnes, allée des Thuyas, 94260 Fresnes, France
<laure.izquierdo@aphp.fr>

Introduction. Les personnes incarcérées représentent une population à risque d'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et

les virus des hépatites, tels que le virus de l'hépatite C (VHC) et le virus de l'hépatite B (VHB). Par ailleurs, les détenus sont soumis à des conditions socio-économiques et d'hygiène défavorables, pouvant contribuer à l'exposition à des virus à transmission entérique, comme le virus de l'hépatite A (VHA) et le virus de l'hépatite E (VHE). Les infections par le VHA et le VHE pourraient accroître la morbidité des patients atteints de pathologies hépatiques chroniques. Un environnement confiné pourrait également favoriser les épidémies d'hépatite A. Cette population carcérale constitue potentiellement un réservoir ou un observatoire pour les changements épidémiologiques. Ainsi, la séroprévalence VIH, VHC, VHB, VHA et VHE a été ré-étudiée chez les personnes détenues lors de leur incarcération dans un centre pénitencier français.

Matériel et méthodes. L'étude sérologique a été menée chez 1093 personnes détenues, dans un unique centre pénitencier français, entre juin et décembre 2017. Après l'obtention d'un consentement éclairé auprès du patient, la recherche de l'antigène (Ag) et des anticorps (Ac) du VIH, des Ac du VHC, de l'AgHBs du VHB, des Ac totaux du VHA et des immunoglobulines G (IgG) et IgM anti-VHE a été réalisée sur les prélèvements de plasma.

Résultats. La prévalence observée était de 1,3 %, 2,9 % et 1,9 % pour le VIH, le VHC et le VHB, respectivement. La séroprévalence VHA s'élevait à 62,7 % et augmentait avec l'âge de 50,3 % pour les personnes de 60 ans ($p < 0,0001$). La séroprévalence VHE était de 8,2 %, équivalente entre les femmes et les hommes (10,8 % et 7,9 %, respectivement), mais augmentait avec l'âge de 3,0 % dans le groupe 10-19 ans à 33,3 % dans le groupe > 60 ans ($p < 0,0001$). Aucune IgM anti-VHE n'a été détectée.

Conclusion. La prévalence du VIH, du VHC et du VHB chez les personnes détenues a été confirmée supérieure à celle de la population générale, comme démontré dans une précédente étude. La séroprévalence VHA était également plus élevée que précédemment rapportée dans la population générale en France. Au contraire, la séroprévalence VHE était plus faible que chez les donateurs de sang français. La proportion d'étrangers ou de français d'origine étrangère étant importante dans ce centre pénitencier français, la faible séroprévalence VHE pourrait être partiellement expliquée par les pratiques religieuses et les habitudes alimentaires des patients.

O31

Dissémination du virus de l'hépatite E dans le sang et les muscles d'animaux co-infectés avec le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin

Morgane Salines¹, Antonin Demange^{2,3,4}, Gaël Stéphant^{2,3,4},

Patricia Renson⁵, Olivier Bourry⁵, Mathieu Andraud¹, Nicolas Rose¹, Nicole Pavio¹

¹ Laboratoire de Ploufragan Plouzané, Unité EBEP, Anses, 22440 Ploufragan, France

² Laboratoire de santé animale, UMR 1161 Virologie, Anses, 14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort cedex 1, France

³ UMR 1161 Virologie, INRA, 14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort cedex 1, France

⁴ École nationale vétérinaire d'Alfort, Université Paris Est (UPE), 7 av. du Général de Gaulle 94700 Maisons-Alfort, France

⁵ Laboratoire de Ploufragan Plouzané, Unité UGPVB, Anses, 22440 Ploufragan, France
<nicole.pavio@anses.fr>

Introduction. La transmission alimentaire du virus de l'hépatite E (HEV) est associée, entre autres, à la consommation de produits contenant du foie cru de porc. Lors de l'infection aiguë de l'animal, le HEV est retrouvé majoritairement dans le foie, cependant, il ne peut pas être exclu que lors d'une infection prolongée, le HEV puisse se retrouver dans d'autres organes et le sang. Au cours d'une étude précédente, nous avons observé que la co-infection du HEV avec le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin (PRRSV), virus immunomodulateur, prolongeait la durée d'excrétion fécale du HEV et augmentait le risque de présence du HEV au niveau du foie à un temps tardif. Le but de la présente étude était de

rechercher le HEV dans le sang et les muscles de porcs co-infectés par le HEV et le PRRSV en conditions expérimentales.

Matériel et méthodes. Dix-huit porcelets, exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS), de cinq semaines, ont été répartis en 3 groupes. Pour chaque groupe, trois porcs ont été inoculés avec les deux virus HEV et PRRSV alors que les trois autres étaient des animaux contacts. Des échantillons individuels de sang et de fèces ont été prélevés régulièrement pendant 49 jours après inoculation (jpi). À la fin de l'essai, les animaux ont été euthanasiés et des échantillons de foie et de muscles (biceps fémoral, grand psoas et pilier du diaphragme) ont été prélevés. La quantification de l'ARN du HEV a été effectuée sur tous les échantillons en utilisant une RT-PCR quantitative avec une gamme standard.

Résultats. Une virémie HEV a été détectée chez tous les animaux inoculés et chez 45 % des porcs contacts, avec des charges virales allant de 1,1.10³ à 7,7.10⁴ copies d'ARN/mL. En moyenne, la virémie HEV a débuté à 23,4 jpi [95 % IC 21,2-25,7] et a duré 28,8 jours [95 % IC 18,6-44,8]. L'ARN du HEV a été détecté dans les trois types de muscles testés, avec des charges virales allant de 2,3.10³ à 1,1.10⁶ copies d'ARN/g. Chez les porcs inoculés, le nombre de copies d'ARN du HEV dans le sérum est corrélé à celui des fèces à 49 jpi ($p < 0,01$), alors que chez les porcs contacts, ce nombre est corrélé à celui du foie à 49 dpi. Chez les porcs contacts une association significative est également observée entre les nombres de copies d'ARN HEV dans les muscles et dans le foie ainsi qu'entre les muscles et les fèces ($p < 0,05$).

Conclusion. En conditions expérimentales, une co-infection du porc par les virus HEV et PRRSV entraîne une virémie prolongée du HEV et la présence du virus au niveau des muscles. Cette détection du HEV dans les muscles est surtout corrélée à la présence du HEV dans le foie et les fèces. Certaines pièces de viande étant consommées sans étape de cuisson à cœur (salaisons) ou avec une cuisson limitée, cette voie d'exposition potentielle doit être prise en compte dans une perspective de sécurité alimentaire et de santé publique.

O32

Émergence, diffusion, évolution du variant 2015 d'entérovirus A71 associé à des atteintes neurologiques en France en 2016

Stéphanie Tomba Ngangas¹, Christine Archimbaud¹, Jean-Michel Mansuy², Catherine Mengelle², Anne-Sophie L'honneur³, Flore Rozenberg³, Denise Hecquet⁴, Stéphanie Marque Juillet⁵, David Leyssene⁶, Sonia Burrell⁷, David Boutolleau⁷, Gisèle Lagathu⁸, Héléne Peigue-Lafeuille¹, Cécile Henquell¹, Audrey Mirand¹, Jean-Luc Bailly,

¹ Université Clermont Auvergne (UCA), LMGE UMR 6023, 49, bd François-Mitterrand, CS 60032, 63001 Clermont-Ferrand cedex 1, France

² CHU Toulouse, Laboratoire de virologie, Toulouse, France

³ AP-HP Cochin, Laboratoire de virologie, Paris, France

⁴ CHU Amiens, Laboratoire de virologie, Amiens, France

⁵ CH Versailles, Laboratoire de microbiologie, Le Chesnay, France

⁶ CH de la côte basque, Laboratoire de biologie, Bayonne, France

⁷ AP-HP La Pitié-Salpêtrière-Charles Foix, Laboratoire de virologie, Paris, France

⁸ CHU Rennes, Laboratoire de virologie, Rennes, France

<amirand@chu-clermontferrand.fr>

Introduction. En 2016, deux foyers d'infections à entérovirus (EV) associées à des complications neurologiques ont été rapportés chez des enfants en Espagne et France, et ont fait l'objet d'alertes sanitaires par le CDC européen et Santé publique France. L'EV type A71 a été identifié dans 49 à 87 % des cas. La majorité des souches étaient apparentées à un variant du sous-génogroupe C1, proche de celui détecté chez des patients présentant des infections neuro-méningées, en Allemagne en 2015. La description initiale du variant EVA71C1v2015 suggérait une origine recombinante.

Objectifs. Décrire la diffusion du virus EVA71C1v2015 en France en 2016 et déterminer son origine évolutive.

Matériels et méthodes. Les séquences virales VP1 partielles (n = 29) ont été déterminées chez 21 patients hospitalisés en France (dont 20 enfants),

3 enfants présentant un syndrome pied-main-bouche et 5 enfants sans manifestation apparente. La diffusion géographique et l'origine temporelle du virus variant ont été étudiées par analyse phylogénétique des séquences VP1. L'origine évolutive du variant a été reconstruite en comparant 2 génomes complets à 842 génomes représentant 19 types d'EV (dont 25 nouveaux génomes déterminés chez des souches identifiées comme parents potentiels du variant).

Résultats. Dans notre étude, l'EV type A71 a été associé aux manifestations cliniques suivantes : détresse cardiorespiratoire, n = 1 ; encéphalite, n = 2 ; cérébellite, n = 2 ; syndrome méningé, n = 2 ; fièvre du nourrisson, n = 9 (dont 4 avec hypotonie et/ou sepsis) ; maladie pied-main-bouche/herpangine, n = 5. Le virus était présent de façon asymptomatique dans les selles de 5 enfants de moins de 3 ans. La phylogénie établie avec les séquences VP1 montre qu'une même souche a été responsable des 29 cas d'infections et qu'elle est étroitement apparentée au virus EVA71C1v2015 détecté en Allemagne. La souche a considérablement évolué par rapport au virus parentaux antérieurs du sous-génogroupe C1. Elle présente 8,5 % de différences nucléotidiques dans la région structurale, ceci correspond à plus de 8 années de circulation depuis la divergence avec l'ancêtre commun. Le virus présente 4 changements d'acides aminés dans les protéines de capsidie dont un à proximité d'un site de liaison au récepteur SCARB2 et un autre dans le canyon. La datation moléculaire suggère une large diffusion en Europe depuis 2013. Le virus a aussi été rapporté aux USA et au Japon. L'analyse des génomes complets indique que l'EVA71C1v2015 a émergé à la suite de recombinaisons multiples, ne conservant du type A71 que la partie codant la capsidie. La filiation du gène de la polymérase virale peut être retracée chez différents types de coxsackievirus A détectés auparavant en Chine, en Russie et au Turkménistan. L'origine du reste du génome est en cours d'analyse.

Conclusions. Le variant EVA71C1v2015 est une forme recombinante et circulante inédite du type A71. La structure génomique du virus pose le problème de la description des lignées d'EV, actuellement basée sur les séquences VP1. La diffusion du virus en Europe occidentale a coïncidé avec une recrudescence des atteintes neurologiques sévères en 2015/2016. Une surveillance renforcée et globale est nécessaire pour déterminer si la circulation intercontinentale du virus présente un risque épidémiologique durable.

O33

Comparaison de la transmission horizontale d'une souche française InDel et d'une souche US non-InDel de virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV)

Sarah Gallien¹, Mathieu Andraud¹, Angélique Moro¹, Nadège Morin¹, Gérald Lediguerher¹, Frédéric Paboeuf¹, Mustapha Berri², Nicolas Rose¹, Beatrice Grasland¹

¹ Anses-Laboratoire de Ploufragan-Plouzane, France

² INRA (INRA Centre Val de Loire), INRA (FRANCE), UMR ISP 1282, INRA, Université Tours, 37380 Nouzilly, France

<sarah.gallien@anses.fr>

Le virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV) est apparu en Europe dans les années 1970. Actuellement, deux génotypes de souches de PEDV existent : les souches InDel qui circulent sur tous les continents et les souches hautement virulentes non-InDel qui circulent en Asie et sur le continent américain. Les porcs infectés par le virus de la diarrhée épidémique porcine (DEP) sont sujets à d'importantes diarrhées aqueuses ainsi qu'à des vomissements parfois accompagnés de signes de déshydratation. Les conséquences de la maladie sont d'autant plus importantes en cas d'infection par une souche non-InDel avec une mortalité pouvant atteindre les 100 % chez les porcelets sous la mère. Cette étude vise à comparer la pathogénicité et la capacité de propagation dans une population porcine d'une souche PEDV InDel isolée en France en 2014 (FR/001/2014) et d'une souche PEDV non InDel (US/2014) de PEDV isolée aux USA la même année. L'étude a été menée dans les installations expérimentales de l'Anses. Quatre animaleries contenant chacune 10 porcs (2 parcs de 5, adjacents, séparés de 40 cm) ont été utilisées. Dans chaque animale-

rie, un porc d'un des deux parcs a été inoculé par voie oro-gastrique avec 5 ml d'un inoculum d'une des deux souches titrant 108 copies de génome viral/ml (2 animaleries/souche). Le porc inoculé était en contact direct avec 4 porcs et en contact indirect avec 5 porcs. Le génome viral a été quantifié par RT-qPCR dans le sang, les fèces et l'air. La séroconversion a été déterminée par un test ELISA spécifique du PEDV. Les porcs inoculés et en contact direct ont excrété du virus dans les fèces : entre 24 h et 53 jours post-inoculation pour la souche non-InDel et entre de 48 h et 49 jours post-inoculation (jpi) pour la souche InDel. Les porcs en contact indirect ont excrété le virus dans les fèces seulement dans le groupe non-InDel : entre 24 h post-inoculation et 51 jpi. Pour les deux souches, une excrétion fécale intermittente a été observée pour quelques porcs. Les porcs infectés ont montré des signes cliniques représentatifs des infections par les PEDV quelle que soit la souche mise en cause et ont présenté une séroconversion. Le virus a été détecté dans l'air des quatre animaleries : de 1 à 71 jpi avec la souche non-InDel et de 2 à 35 jpi avec la souche InDel. L'estimation des paramètres de transmission met en évidence un taux de transmission direct deux fois plus important pour la souche non-InDel ($\beta = 2,95(1,33; 5,23)$ vs $\beta = 1,36(0,6; 5,6)$). La transmission indirecte, négligeable pour la souche InDel, est un facteur important de diffusion du virus pour la souche non-InDel avec un taux de transmission β estimé à 0,5 (0,1;1,3). Les résultats de cette étude mettent en évidence que la transmission par contact direct est donc la voie principale de transmission pour la souche InDel. La transmission par l'air est seulement effective pour la souche non-InDel dans les conditions expérimentales testées. La quantification de la transmission souligne un taux de propagation plus important avec la souche non-InDel qu'avec la souche InDel.

P61

Les éléments viraux endogènes renseignent sur le spectre d'hôte passé et présent des Flavivirus

Sebastian Lequime^{1,2}, Louis Lambrechts¹

¹ G5 Interactions virus-insectes, Dpt génomes et génétique, Institut Pasteur, Paris, CNRS URA3012, Institut Pasteur de Paris, 28 rue du Dr Roux 75015 Paris, France

² Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Herestraat 49 3000 Leuven, Belgique

<sebastian.lequime@kuleuven.be>

On retrouve au sein du genre *Flavivirus* certains des pathogènes d'importance en santé publique (virus de la dengue, Zika, de la fièvre jaune, etc.), tous caractérisés par une transmission vectorielle. Les moustiques sont de loin les principaux vecteurs de flavivirus à l'origine d'infections humaines. Cependant, ce genre ne se limite pas aux arbovirus et comprend une grande diversité d'espèces infectant un large éventail d'hôtes vertébrés et invertébrés, en particulier des moustiques. Alors que les moustiques des genres *Aedes* et *Culex* figurent en bonne place comme hôtes et vecteurs de flavivirus, les moustiques du genre *Anopheles*, comptant les principaux vecteurs du paludisme humain et partageant pourtant une écologie et une répartition géographique proches, ne leur sont qu'anecdotiquement associés. Si plusieurs études ont pu détecter la présence de flavivirus chez des anophèles, aucune n'a permis de démontrer que ces moustiques étaient bien des hôtes de ces virus, c'est-à-dire avec une réplication active, ou s'ils n'ont été que transitoirement contaminés par un repas sanguin sur hôte virémique, sans établissement d'une infection, ou sujets à une contamination expérimentale. L'étude des éléments viraux endogènes (EVEs) dans les génomes d'anophèles peut être dans ce cas d'un grand intérêt. Les EVEs sont des insertions permanentes de tout ou partie du matériel génétique d'un virus dans le génome de son hôte. Si pour certains virus, comme les rétrovirus, cette insertion fait partie du cycle normal de réplication, plusieurs EVEs non-rétroviraux, dont des EVEs d'origine flavivirale ont été identifiés dans les génomes des moustiques *Aedes aegypti* ou *Aedes albopictus*. Les EVEs non-rétroviraux sont des témoins précieux dans l'étude de l'histoire évolutive des virus et leur possible spectre d'hôte. En effet, ils sont très probablement le produit d'une interaction ancienne et intime entre le virus et son hôte car ils nécessitent au moins deux événements

considérés comme rares : (i) une rétrotranscription et (ii) une intégration dans le génome des lignées germinales. L'identification d'un EVE d'origine flaviviral dans le génome d'une ou plusieurs espèces d'anophèles permettrait ainsi de confirmer leur statut d'hôte naturel de flavivirus. Nous avons ainsi recherché, grâce à des approches bioinformatiques puis confirmation *in vivo*, la présence de séquences proches des flavivirus dans les génomes de 21 espèces d'anophèles. Cette étude a permis de détecter la présence d'EVEs d'origine flavivirale dans les génomes de deux espèces asiatiques, *Anopheles minimus* et *Anopheles sinensis*. Outre la confirmation du statut d'hôte naturel de flavivirus des moustiques du genre *Anopheles*, l'analyse phylogénétique de ces EVEs montre leur proximité avec certains flavivirus spécifiques d'insectes, suggérant l'existence d'un clade de flavivirus spécifiques d'insectes associés aux anophèles, comparable à ceux, déjà connus, associés aux moustiques du genre *Culex* ou au genre *Aedes*.

Lequime S. et Lambrechts L. *Virus Evolution* 2017 ; 3 : vew035.

P62

Excrétion d'une souche non-InDel de virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV) dans la semence de verrats infectés en conditions expérimentales

Sarah Gallien¹, Angélique Moro¹, Gérald Lediguerher¹, Virginie Catinot², Frédéric Paboeuf¹, Mustapha Berri³, Phillip Gauger⁴, Nathalie Pozzi², Edith Authié², Nicolas Rose¹, Beatrice Grasland¹

¹ Anses-Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, France

² Laboratoire national de contrôle des reproducteurs (LNCR), LNCR, France

³ INRA (INRA Centre Val de Loire), INRA (France), UMR ISP 1282, INRA, Université Tours, 37380, Nouzilly, France

⁴ Iowa State University College of Veterinary Medicine, USA
<sarah.gallien@anses.fr>

En 2013, la diarrhée épidémique porcine (DEP) a été identifiée aux États-Unis. L'agent responsable de cette maladie, le virus de la diarrhée épidémique porcine (PEDV), s'est propagé rapidement aux États-Unis mais aussi au Canada et en Amérique du Sud. L'infection par le PEDV provoque d'importantes diarrhées aqueuses et entraîne une mortalité approchant les 100 % chez les porcelets sous la mère, en particulier en cas d'infection par une souche non-InDel de PEDV comme celles circulant aux États-Unis et réputées hyper-pathogènes. Le PEDV est principalement transmis par voie oro-fécale. La transmission par voie vénéérienne a déjà été suspectée mais n'a jamais été étudiée. L'objectif de cette étude était de déterminer si le PEDV pouvait être détecté dans la semence de verrats EOPS (exemptés d'organismes pathogènes spécifiés) inoculés avec une souche non-InDel de PEDV. Deux verrats ont été inoculés par voie orale avec 5 ml d'un inoculum titrant 5×10^8 copies/ml d'une souche non-InDel de PEDV américaine isolée d'un cas clinique en 2014. Suite à l'inoculation, des prélèvements de semences quotidiens ont été réalisés la première semaine post-inoculation puis deux fois par semaine jusqu'à la fin de l'essai soit 51 jours post-inoculation (jpi). Des prélèvements de fèces ont aussi été réalisés : deux fois par jours la première semaine post-inoculation puis trois fois par semaine. La semence prélevée a été traitée par centrifugation afin de séparer la fraction riche en spermatozoïdes de la fraction séminale. Des extractions en TRIzol ont été réalisées sur ces deux fractions afin d'isoler les ARN totaux. Les ARN totaux des fèces ont été isolés avec le kit RNeasy (Qiagen, Hilden, Allemagne). La présence du PEDV a été quantifiée par RT-qPCR. La séroconversion des animaux a été évaluée par un test ELISA spécifique du PEDV. Les deux verrats ont présenté les symptômes de la maladie (*i.e.* deux phases de diarrhée de 4 jours chacune) et une excrétion du PEDV a été détectée dans les fèces. La présence transitoire du génome du PEDV a été détectée dans la fraction séminale ($5,06 \times 10^2$ à $2,44 \times 10^3$ copies génomique/ml entre 0,5 jpi et 35 jpi) et dans la fraction riche en spermatozoïdes ($5,64 \times 10^2$ à $3,40 \times 10^4$ copies génomique/ml entre 0,5 jpi et 49 jpi) de la semence. Les maximums d'excrétion dans les deux fractions ne sont pas atteints en même temps. L'excrétion virale dans les deux fractions de la semence a

été observée de manière intermittente cependant l'excrétion dans la fraction riche a été observée pendant des périodes plus prolongées que dans la fraction séminale. Les deux verrats ont tous les deux séroconvertis au cours de l'essai. Pour conclure, la présence du génome viral du PEDV a été détectée dans les fractions séminale et riche en spermatozoïdes ainsi que dans les fèces, il reste cependant à déterminer si le génome détecté dans la semence est infectieux. Cette mise en évidence de la présence du PEDV dans la semence soulève donc de nouvelles questions telles que la propagation de la maladie dans la population porcine *via* l'utilisation de semences pouvant être contaminées.

P63

Développement de nouvelles méthodes pour corréler la présence de particules infectieuses de norovirus murins à des signaux positifs en RT-qPCR dans des mollusques bivalves

Ravo Razafimahefa¹, Louisa Ludwig-Begall¹, Axel Mauroy^{1,2}, Etienne Thiry¹

¹ Virologie vétérinaire et maladies virales animales, Département des maladies infectieuses et parasitaires, FARA, ULiège

² Direction de l'évaluation des risques, Politique de contrôle, Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, Bruxelles, Belgique
<etienne.thiry@uliege.be>

Les norovirus humains, genre *Norovirus*, famille *Caliciviridae*, sont responsables de la majorité des épidémies de gastroentérites virales. Les mollusques bivalves, qui sont des animaux filtrants et sont capables d'accumuler les norovirus dans leur hépatopancréas, font partie des principaux vecteurs chez l'homme à l'origine des toxi-infections alimentaires. La culture *in vitro* des norovirus humains n'est pas faisable en analyse de routine. De ce fait, le norovirus murin est utilisé comme modèle. La RT-qPCR, qui est la méthode standard pour la détection des norovirus humains dans les denrées alimentaires, ne permet pas la distinction entre virus infectieux et non infectieux. Cette étude propose une méthode qui implique le traitement des norovirus murins à un agent intercalant, le monoazoture de propidium (ou propidium monoazide), avant d'effectuer la RT-qPCR. Le PMA peut pénétrer dans une particule virale dont la capside virale est dénaturée, se lier ainsi au génome et inhiber l'amplification de ce dernier lors de la PCR. Par conséquent, les virus avec des capsides intactes sont imperméables et restent détectables par la RT-qPCR. La première étape d'inactivation des échantillons de norovirus par des techniques d'inactivation puis la détection des particules infectieuses via la méthode PMA-RT-qPCR a été déjà réalisée. La deuxième méthode proposée associe la cytométrie en flux pour une détection qualitative des norovirus infectieux à une RT-qPCR afin de confirmer l'intégrité du génome. Les norovirus sont capturés par des anticorps couplés à des billes, puis détectés par un système biotine-streptavidine utilisant ces mêmes anticorps biotinylés. Pour les deux méthodes, les norovirus murins sont d'abord détectés en PBS, puis dans une matrice plus complexe, l'hépatopancréas de moule. La norme ISO pour l'extraction des virus dans les denrées alimentaires induit une dénaturation des capsides par traitement à la protéinase K, ce qui pourrait entraîner une sous-estimation des particules infectieuses. Une optimisation de nouvelles approches comme l'éluion-concentration (glycine-PEG) et/ou l'utilisation du « TissueLyser » qui est une méthode mécanique pour lyser les tissus afin de récupérer les particules virales, est évaluée pour améliorer le taux d'extraction des virus. L'objectif final est de détecter et de quantifier les norovirus infectieux retrouvés naturellement dans les mollusques bivalves par des méthodes alternatives à la RT-qPCR.

P64

Épidémie de conjonctivite hémorragique due à un coxsackievirus A24 en Guyane

Marie-Line Joffret^{1,2}, Antoine Enfissi³, Déborah Delaune^{1,4}, Francis Delpeyroux^{1,2}, Maël Bessaud^{1,2}, Dominique Rousset³

¹ Unité de biologie des virus entériques, Institut Pasteur de Paris, France

² Centre collaborateur de l'OMS pour les entérovirus et les vaccins viraux, WHO(OMS), France

³ Laboratoire de virologie, Institut Pasteur de la Guyane, France

⁴ Laboratoire de virologie, Institut de recherche biomédicale des armées, France

<marie-line.joffret@pasteur.fr>

Des dizaines de milliers de cas de conjonctivite hémorragique aiguë (CHA) ont été observés en 2017 dans de nombreux pays des Antilles et d'Amérique du Sud. Des études préliminaires ont rapporté l'identification d'adénovirus et d'entérovirus dans des échantillons collectés chez certains patients atteints de CHA. Jusqu'à présent, aucun de ces virus n'a été pleinement caractérisé. L'épidémie de conjonctivite hémorragique a débuté en Guyane en avril 2017 et a duré jusqu'en juillet. Des échantillons de salive et des lavages oculaires de patients guyanais atteints de CHA ont été reçus à l'Institut Pasteur de la Guyane. Nos analyses ont permis de mettre en évidence dans certains échantillons la présence de coxsackievirus A24, un entérovirus qui est l'un des agents étiologiques principaux de la CHA. Le génome des virus isolés a été entièrement séquencé. Les séquences sont extrêmement proches entre elles et appartiennent à un génotype qui circule dans le monde entier depuis plus de dix ans. Un résidu récemment identifié pour être impliqué dans le tropisme oculaire de certains CVA24 est présent dans la capsidie des isolats guyanais. Alors que les événements de recombinaison génétique sont particulièrement fréquents au sein des écosystèmes constitués par les entérovirus cocirculants, nos analyses génétiques ne montrent aucun événement de recombinaison entre les CV-A24 de ce génotype et d'autres génotypes, malgré une circulation continue depuis plus d'une décennie. Ceci pourrait être expliqué par le tropisme particulier de ces virus.

P65

Séroprévalence de la rubéole chez des parturientes consultant dans un centre de santé à Abidjan, Côte d'Ivoire

Nanga Zinzendori^{1,2}, Oba Oba¹, Timothée Ouassa^{2,3}, Valery Zokou³, Asher Cablan^{2,3}, Guillaume Loukou^{2,3}

¹ Département de bactériologie-virologie, UFRSPB, Université Houphouët-Boigny, Abidjan, BP V 11 Abidjan, Côte d'Ivoire

² Laboratoire national de la santé publique, BP 2403 Abidjan 18, Côte d'Ivoire

³ Centre de diagnostic et de recherche sur le Sida, Côte d'Ivoire <zokouvalery@gmail.com>

Introduction. La rubéole est une infection virale bénigne survenant généralement dans l'enfance mais grave lors de la primo-infection maternelle au cours du premier trimestre de grossesse. En Côte d'Ivoire, la dernière étude de la séroprévalence de la rubéole remonte à 1993. L'objectif de ce travail était de déterminer la séroprévalence du virus de la rubéole chez des femmes gestantes reçues dans un centre de santé d'Abidjan.

Population d'étude et méthodes. Il s'agit d'une étude prospective transversale, descriptive et analytique qui s'est déroulée au centre Maria Andreoli de la Riviera Palmeraie, de mars 2016 à mars 2017. Les caractéristiques sociodémographiques ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire. La sérologie de la rubéole a fait appel aux tests Rubagen (BiokitR). Le test du chi deux (X²) a été utilisé pour la comparaison de différence entre proportions ($p < 0,05$).

Résultats. Sur la période d'étude 376 parturientes ont été recrutées. Au total 272 soit 77,3 % des enquêtées possédaient des anticorps anti-rubéole. Selon le type d'isotype, les IgG ont été détectées dans 96,3 % des cas. Les taux d'immunisation étaient le plus élevés chez les parturientes qui appartenaient à la classe d'âge de 18-21 ans, soit 100 % des cas ($p < 0,005$), qui vivaient dans une villa, soit 98,9 % des cas ($p < 0,001$) et qui étaient à jour de leur vaccination, soit 99,1 % des cas ($p < 0,001$).

Conclusion. Les résultats obtenus ont montré que le taux d'immunisation contre le virus de la rubéole chez les parturientes à Abidjan est inférieur à l'objectif fixé par l'OMS qui est de 95 %. Il est nécessaire de continuer les mesures préventives instaurées, voire les renforcer, notamment la vaccination.

P66

Étude de la transmission du virus de l'hépatite E entre l'homme et l'environnement

Honorine Fenaux^{1,2}, Manon Chassaing², Alexis Gentilhomme², Hélène Jeulin^{1,2}, Sibel Berger³, Christophe Gantzer², Isabelle Bertrand², Evelyne Schvoerer^{1,2}

¹ Laboratoire de virologie, CHRU Nancy (CHRU Nancy), Faculté de médecine de Nancy, rue du Morvan, 54505 Vandœuvre-lès-Nancy, France

² Laboratoire de chimie physique et microbiologie pour l'environnement (LCPME), Université de Lorraine, CNRS UMR7564, Université de Lorraine, 405 rue de Vandœuvre, 54601 Villers-lès-Nancy, France

³ Laboratoire de virologie, CHRU Nancy (CHRU Nancy), Hôpitaux universitaires de Nancy, rue du Morvan, 54505 Vandœuvre-lès-Nancy, France <e.schvoerer@chru-nancy.fr>

Introduction. L'hépatite E est une maladie humaine émergente pouvant donner chez l'homme des hépatites aiguës ou chroniques. Le virus de l'hépatite E (VHE), très variable, est suspecté d'être transmis par l'eau et la nourriture avec un cycle zoonotique, notamment pour le génotype 3. Cependant, la circulation du VHE entre humains, animaux et environnement reste mal comprise.

Objectifs. Notre objectif est d'explorer par épidémiologie moléculaire la circulation du VHE entre les patients, les animaux et l'environnement. Par des approches bio-informatiques, nous étudions des caractéristiques moléculaires et des liens phylogénétiques entre des souches de VHE d'origines diverses (logiciels AnTheProt, MEGA 6).

Méthodes. Nous avons recueilli des prélèvements : i) de patients souffrant d'hépatite liée au VHE et suivis au CHRU de Nancy ($n = 7$), ii) d'entrée de station d'épuration (STEP) à Nancy ($n = 19$) ; iii) d'un abattoir de bétail situé dans les Vosges ($n = 20$) ; iv) de gibier (sangliers) ($n = 20$) (foie, bile et selles) ; et v) de selles de cochons de ferme ($n = 22$) du nord-est de la France. Nous avons appliqué une technique de PCR en temps réel quantitative ciblant le gène ORF3 du VHE sur les échantillons de patients, de STEP, d'abattoir, de sangliers et de cochons. Les séquences en nucléotides et en acides aminés issues du séquençage direct du gène ORF2 et de la zone de chevauchement ORF2/ORF3 ont été analysées pour les caractéristiques physicochimiques et la phylogénie.

Résultats. Le VHE a été détecté par PCR en temps réel dans les sept échantillons humains issus de patients, dans cinq échantillons de STEP, dans quinze échantillons d'abattoir et chez deux sangliers. Les isolats dont le gène ORF2 et la zone de chevauchement ORF2/ORF3 ont pu être séquencés ont été rattachés au génotype 3. Sur la zone de chevauchement ORF2/ORF3, nous retrouvons : i) des homologies entre séquences issues de patients et d'abattoirs (94 %), séquences de patients et d'un foie de sanglier (91 %) et séquences d'abattoirs et du foie de sanglier (93 %) ; ii) des différences nucléotidiques peu fréquentes (< 10 %) entre chaque paire comparée. La majorité des différences (80 %) est située dans le premier tiers du fragment séquencé (nucléotides 148-176 en partant du début du gène ORF2, sur un fragment de 94 nucléotides). Nous sommes en train d'examiner si des signatures moléculaires pourraient être corrélées à certains hôtes ou certains échantillons environnementaux.

Conclusions. Le VHE a été mis en évidence par une PCR en temps réel quantitative dans des prélèvements de patients souffrant d'hépatite cytolitique, et pour la première fois dans le nord-est de la France, dans des prélèvements environnementaux d'entrée de station d'épuration, de sortie d'abattoir et de sangliers avec des homologies importantes entre séquences disponibles. Nous poursuivons la recherche de liens phylogénétiques entre les souches humaines et environnementales de VHE ainsi que l'étude des propriétés physicochimiques des souches virales afin de mettre en évidence des signatures moléculaires et de mieux comprendre la circulation du virus entre l'homme, les animaux et l'environnement.

P67

Étude par metabarcoding de la diversité des norovirus humains dans les huîtres

Marion Desdouts, Joanna Ollivier, Julien Schaeffer, Soizick Le Guyader

Laboratoire santé environnement microbiologie (LSEM/SG2M/Ifremer),
Institut français de recherche pour l'exploitation de la Mer (Ifremer),
France
<marion.desdouits@ifremer.fr>

Les norovirus (NoV) sont les principaux agents des gastroentérites aiguës chez l'homme. Ils se transmettent de personne à personne et par exposition environnementale (surfaces, eaux, aliments contaminés). Excrétés en grandes quantités par les personnes infectées, ils sont présents en forte concentration dans les eaux usées dont ils ne sont que partiellement éliminés par les traitements actuels, et peuvent alors être déversés dans l'environnement. En milieu littoral, les coquillages élevés dans des eaux côtières contaminées concentrent ces virus sans être infectés eux-mêmes. Les huîtres sont ainsi le 1^{er} aliment impliqué dans les toxico-infections alimentaires collectives (TIAC) à NoV, avec des conséquences sanitaires et économiques importantes. Par ailleurs, les NoV présentent une grande variabilité génétique, avec 3 génogroupes et plus de 25 génotypes pouvant infecter l'homme. La plupart ont déjà été détectés dans les huîtres, mais certaines souches sont plus souvent associées à une transmission environnementale, suggérant une sélection des souches virales dans l'environnement. Cependant, dans les échantillons environnementaux en général, et de coquillage en particulier, l'identification des différents génotypes présents et potentiellement à l'origine d'une infection humaine est rendue difficile par la faible charge virale. De plus, lorsqu'une souche virale est identifiée dans l'échantillon de coquillage, elle ne correspond pas toujours à la souche retrouvée chez les patients. Lors de cette étude, nous avons cherché à développer une approche de *metabarcoding* pour identifier les génotypes de NoV et évaluer leur diversité dans des tissus d'huîtres dont la consommation était associée à des TIAC. Les amplicons obtenus avec des amorces dégénérées ciblant le génogroupe II ont été séquencés par Illumina MiSeq, et les données analysées à l'aide du pipeline FROGS implémenté dans Galaxy. Cette méthode a permis de mettre en évidence une plus grande diversité virale que le clonage classique, et la présence du génotype émergent GII.17 dans tous les échantillons. Elle pourrait permettre le suivi de la diversité des NoV dans l'environnement et ainsi de mieux en comprendre l'épidémiologie et la sélection des souches lors d'une transmission environnementale. Les techniques de séquençage à haut débit telle que le *metabarcoding* ont révolutionné la microbiologie. Leur application à l'étude de la diversité virale dans des échantillons cliniques ou environnementaux est prometteuse mais nécessite d'adapter les méthodes d'analyses aux spécificités de chaque virus.

P68

Émergence du virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO) à sérotype 4 en France continentale

Stéphan Zientara, Corinne Sailleau, Cyril Viarouge, Damien Vitour, Emmanuel Bréard
UMR1161 Virologie, Anses-INRA-ENVA, 94700 Maisons-Alfort, France
<stephan.zientara@vet-alfort.fr>

En novembre 2017, un veau, qui devait être exporté en Espagne, s'est révélé être positif par RT-PCR de groupe FCO (PCR qui détecte tous les sérotypes du virus de la fièvre catarrhale ovine) mais négative en PCR de typage (sérotipe 8) par le laboratoire départemental de la Loire. Le prélèvement de sang a été adressé au laboratoire national de référence de l'Anses qui a confirmé, le 6 novembre, ces résultats et qui a identifié le type en cause (type 4). La séquence nucléotidique du génome de la souche virale a été déterminée (à 99,19 %) ; elle présente une très forte identité avec les souches présentes dans les Balkans et en Corse. Ce veau provenait d'un élevage situé dans le département de la Haute-Savoie. Le 9 novembre, sur 20 prélèvements de sang, un animal s'est révélé être positif par PCR de type 4 : la mère du veau !

Il s'agit du premier cas de sérotype 4 détecté en France continentale. Le veau a été euthanasié. L'origine de ce cas est actuellement inconnue. Le virus de la FCO de sérotype 4 sévit actuellement avec une acuité particulière en Corse et en Sardaigne, et est également présente en Italie du Nord.

Conformément à la réglementation de l'UE, un périmètre interdit et des zones de protection et de surveillance ont été mis en place (respectivement, 20, 100 et 150 km autour du foyer). Par ailleurs, des prélèvements ont été réalisés dans les zones de protection et de surveillance pour rechercher la présence de la maladie : tirage au sort d'élevages de bovins dans chaque département, à raison de 45 élevages par département afin de disposer d'une répartition spatiale des élevages la plus homogène possible. Pour chaque élevage sélectionné, des analyses RT-PCR sur 20 animaux âgés de plus de 12 mois seront réalisées afin de détecter le génome viral. Au 21 décembre 2017, 62 foyers ont été identifiés : 55 dans le département de la Haute-Savoie, 5 dans l'Ain, 1 en Saône-et-Loire et 1 en Haute-Saône. Trois millions de doses de vaccins ont été préparés à partir de la banque française d'antigènes et ont été fournis par le laboratoire Merial/Boehringer Ingelheim et 550 000 doses supplémentaires ont été commandés. Comme en 2015 où la France s'était retrouvée confrontée à la ré-émergence du virus de sérotype 8 dans l'Allier, la détection du virus de sérotype 4 repose le problème de l'éventuelle éradication de ce sérotype. Si la zone infectée est limitée, une vaccination massive et obligatoire des ruminants domestiques pendant plusieurs années devrait permettre d'effectivement éradiquer ce virus du territoire français. Si des animaux infectés ont quitté cette zone et que d'autres foyers sont détectés, les conclusions seront tout autres et il est fort probable que la France devra apprendre à vivre avec un deuxième sérotype sur son territoire. Le 22 décembre 2017, compte tenu de l'extension de l'aire d'infection et de l'insuffisance de doses vaccinales disponibles, le CNOPSAV a décidé que la politique d'éradication par une vaccination massive obligatoire des ruminants domestiques ne pourrait pas être tenue.

P69

Quantification des adénovirus infectieux et détection du sérotype 41 infectieux dans des eaux de rivière

Maryse Iris Sedji¹, Mihayl Varbanov², Marie Méo¹, Marius Colin², Laurence Mathieu¹, Isabelle Bertrand¹

¹ Laboratoire de chimie physique et microbiologie pour l'environnement, LCPME UMR 7564 CNRS Université de Lorraine (LCPME), France

² Laboratoire lorrain de chimie moléculaire (L2CM), CNRS UMR7565, Faculté de pharmacie, Université de Lorraine-FST, boulevard des Aiguillettes 54506 Vandœuvre-Lès-Nancy, France
<isabelle.bertrand@univ-lorraine.fr>

Introduction. Les adénovirus humains sont décrits comme des virus entériques très présents dans le milieu hydrique. Leur excrétion fécale, quelle que soit la pathologie induite et leur résistance aux conditions environnementales, sont des facteurs importants de leur prévalence environnementale. Ces virus ont également été proposés par différentes études comme indicateurs de contamination virale du milieu hydrique. Des données sont effectivement publiées sur la présence du génome de ces virus dans le milieu hydrique, par contre les données concernant la prévalence des adénovirus humains infectieux sont très pauvres.

Objectifs. Notre étude visait à quantifier les adénovirus humains infectieux afin de déterminer la proportion d'adénovirus infectieux par rapport aux particules totales dans des eaux de rivière. Le sérotype 41 étant la principale cause de gastro-entérites parmi les adénovirus, nous avons également cherché à déterminer la prévalence des particules infectieuses de ce sérotype dans ces échantillons. Le génome des norovirus des génogroupes I et II a également été quantifié dans ces échantillons.

Méthodes. Des prélèvements d'eau de rivière (n = 15) ont été réalisés sur une période de 6 mois à Nancy. Les adénovirus et norovirus ont été concentrés en utilisant une méthode de filtration sur laine de verre et les génomes viraux ont été quantifiés en utilisant une PCR digitale. Les adénovirus infectieux ont été quantifiés en utilisant une méthode de culture cellulaire intégrée à la PCR quantitative (ICC-qPCR).

Résultats. Les 15 échantillons d'eau de rivière se sont avérés positifs pour les adénovirus de tous les sérotypes, les adénovirus de sérotype 41 et les norovirus des génotypes I et II. Les concentrations en génome des adénovirus de tous les sérotypes, du sérotype 41 et des norovirus du génogroupe II étaient similaires. Les adénovirus du sérotype 41 représentaient 80 % de

l'ensemble des adénovirus en termes de génome. Des adénovirus infectieux ont été détectés dans 93 % des échantillons, ils étaient quantifiables dans 53 % des échantillons et représentaient 0,3 à 12,2 % des particules d'adénovirus. Des adénovirus infectieux du sérotype 41 ont été trouvés dans 73 % des échantillons.

Conclusion. Ce travail montre une présence importante d'adénovirus et notamment d'adénovirus de sérotype 41 dans les eaux de rivière en France et la nécessité de développer des méthodes de détection spécifique de ces particules virales infectieuses dans le milieu hydrique.

P90

Étude de l'évolution de la diversité intrahôte du virus Puumala lors d'infections expérimentales (projet PIRATE)

Guillaume Castel¹, Caroline Tatar¹, Maxime Galan¹, Bastien Cazaux², Adélaïde Dubois^{1,3}, Sarah Madrières^{1,3}, Séverine Murri³, Johann Vulin³, Eric Rivals^{2,4}, Philippe Marianneau³, Nathalie Charbonnel¹

¹ Centre de biologie pour la gestion des populations (CBGP), Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques UMR1062, INRA [Montpellier], Université de Montpellier, Institut national d'études supérieures agronomiques de Montpellier, 755 avenue du Campus Agropolis, 34988 Montpellier sur Lez, France

² Laboratoire d'informatique de robotique et de microélectronique de Montpellier (LIRMM) Université de Montpellier UMR5506, CNRS UMR5506, 161 rue Ada 34095 Montpellier France

³ Laboratoire de Lyon Anses, 31, avenue Tony Garnier 69394 Lyon Cedex 07 - France

⁴ Institut de biologie computationnelle (IBC), Université de Montpellier, Montpellier France

<guillaume.castel@supagro.inra.fr>

La diversité génétique intra-hôte d'un virus pourrait être reliée au succès de réplication et/ou de transmission chez son hôte mais également chez des individus d'autres espèces. L'importance de cette diversité virale intra-hôte pourrait donc potentiellement constituer un indicateur de la pathogénicité d'une souche virale. Notre modèle est l'Orthohantavirus Puumala (PUUV), dont le réservoir sauvage est le campagnol roussâtre. L'homme constitue pour le PUUV un hôte accidentel chez qui le virus est la cause de néphropathie épidémique (NE). Nous testons l'hypothèse que l'importance et/ou l'évolution de la diversité virale intra-hôte de PUUV chez les campagnols roussâtres diffère selon le statut épidémiologique des régions d'où proviennent les campagnols infectés (zone endémique ou non endémique pour la NE), ce qui pourrait constituer une explication de la différence de statut de ces régions. Nous menons donc des approches d'infection expérimentale de campagnols roussâtres sauvages par PUUV afin d'étudier l'évolution au cours du temps de la diversité génétique intra-hôte de PUUV dans différents organes et excréta. Pour mettre au point la méthodologie d'analyse de cette diversité virale intra-hôte, nous avons utilisé dans un premier temps une souche de laboratoire (Sotkamo) comme inoculum. La diversité virale intra-hôte dans les organes et excréta est ensuite évaluée par séquençage haut-débit du segment S viral à partir des prélèvements réalisés. Par rapport à un séquençage génomique classique qui permet d'obtenir la séquence consensus majoritaire du virus, la détection de variant viraux présent en fréquence hétérogène dans un hôte nécessite l'obtention d'un grand nombre de séquences clonales. Le séquençage MiSeq permet de caractériser et de suivre l'évolution de mutations (SNP pour *Single Nucleotide Polymorphism*) au sein des génomes viraux. Cependant il ne permet pas d'associer ces SNP entre eux le long du génome pour reconstruire la séquence complète d'un variant particulier (génotype). C'est pourquoi nous avons également testé en parallèle une technologie de séquençage « long-read » (séquençage PacBio) sur les mêmes échantillons. Cette technologie permet en effet de séquencer des génomes entiers mais présente un taux d'erreur élevé. Un premier jeu de données MiSeq et PacBio a été obtenu. Deux variants majoritaires différenciés par deux SNPs ont été identifiées dans l'inoculum et leur évolution a pu être suivie au cours de l'infection. Une nouvelle méthode de correc-

tion a par ailleurs été appliquée aux séquences PacBio. Cette méthode a permis de retrouver le polymorphisme observé en MiSeq et donne en plus l'opportunité d'obtenir les séquences complètes des deux variants présents dans l'inoculum.

P91

Étude de la dynamique d'infection et des interactions hôte-pathogène du virus Puumala dans des zones géographiques épidémiologiquement distinctes en France

Sarah Madrières¹, Séverine Murri¹, Johann Vulin¹, Nathalie Charbonnel², Guillaume Castel³, Philippe Marianneau¹

¹ Unité virologie Anses, 31 av Tony Garnier 69364 Lyon cedex 07, France

² Centre de biologie et gestion des populations (CBGP) Université Montpellier II, Sciences et techniques, INRA, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement [CIRAD] UMR55, Institut de recherche pour le développement [IRD] UR022, Campus international de Baillarguet 34398 Montpellier cedex 5, France

³ Centre de biologie pour la gestion des populations (CBGP), Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques UMR1062, INRA Université de Montpellier, Institut de recherche pour le développement : Institut national d'études supérieures agronomiques de Montpellier, 755 avenue du Campus Agropolis, 34988 Montpellier-sur-Lez, France <philippe.marianneau@anses.fr>

Les hantavirus sont des virus zoonotiques émergents. Ils sont responsables de deux pathologies chez l'homme : la fièvre hémorragique à syndrome rénal (FHSR) en Europe et en Asie, et l'hantavirose à syndrome cardiopulmonaire (HSCP) en Amérique. Une grande diversité de ces virus est décrite au sein de différentes espèces animales (rongeurs, soricomorphes, chiroptères). Quatre hantavirus circulent en France : les virus Nova, Seoul, Tula et Puumala. L'hantavirus principal présent en France est le virus Puumala (PUUV), agent étiologique de la néphropathie épidémique (NE), forme atténuée de FHSR chez l'homme. Son réservoir est le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*), un rongeur forestier. La transmission du virus à l'homme se fait principalement par inhalation d'aérosols contaminés via les urines ou les fèces du rongeur. En France, plus d'une centaine de cas d'infection par PUUV sont recensés chaque année (données CNR Hantavirus). La NE est retrouvée uniquement dans la partie nord-est du pays, malgré la présence du réservoir sur l'ensemble du territoire français (excepté sur le littoral méditerranéen). Selon les régions françaises étudiées, le statut épidémiologique diffère vis-à-vis de PUUV et de la NE. Ainsi, Orléans est une région où le virus circule dans les populations de campagnols roussâtres mais sans cas humain rapporté (région péri-endémique), contrairement aux Ardennes décrites comme une des principales régions endémiques pour la NE. Les facteurs expliquant la variabilité de circulation et de transmission de PUUV sont encore peu connus. Cette étude vise à étudier la dynamique et l'évolution de PUUV au sein de son réservoir dans ces deux régions françaises épidémiologiquement contrastées afin d'évaluer les risques d'extension de la NE en France. Afin d'approfondir nos connaissances sur les interactions hôte-pathogène, nous avons tout d'abord réalisé une première série d'infections expérimentales avec la souche « Ardennes », isolée au laboratoire. Cette souche a été utilisée pour infecter deux populations de campagnols roussâtres sauvages, capturées à Orléans et dans les Ardennes. Ces expériences permettront, par des analyses de QRT-PCR et de sérologie, d'étudier la distribution du virus dans les différents tissus et cellules du campagnol et la réponse immunitaire développée par le réservoir. La souche « Orléans », également isolée au laboratoire, sera par la suite utilisée sur ces mêmes populations de rongeurs et dans les mêmes conditions expérimentales. Des approches phylogénomiques seront ensuite réalisées afin d'étudier l'évolution génétique de PUUV au cours de l'infection.

P92

Molecular characterization of equine anaemia virus responsible of a major outbreak in south-east of France

Delphine Gaudaire¹, Fanny Lecouturier¹, Zientara Stefan², Aymeric Hans¹

¹ *Laboratoire de pathologie équine de Dozulé, Anses, Goustranville 14430 Dozulé, France*

² *Virologie UMR1161 (VIRO) INRA UR1161, Anses, ENVA Maisons-Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle 94704 Maisons-Alfort cedex, France <aymeric.hans@anses.fr>*

In 2009, a major outbreak of equine infectious anaemia (EIA) was reported in the south-east of France. This outbreak affected three premises located in the Var region where the index case, a 10-year-old mare that exhibited clinical signs consistent with EIA, occurred at a riding school. Overall, more than 250 horses were tested for EIAV (equine infectious anaemia virus) antibodies, using agar gel immunodiffusion test, and 16 horses were positive in three different holdings. Epidemiological survey confirmed that the three premises were related through the purchase/sale of horses and the use of shared or nearby pastures. Molecular characterization of viruses was performed by sequencing the full gag gene sequence (1,400 bp) of the proviral DNAs retrieved from the spleen of infected animals collected post-mortem. Phylogenetic analysis confirmed epidemiological data from the field, as viruses isolated from the three premises were clustering together suggesting a common origin whereas some premises were 50 km apart. Moreover, viruses characterized during this outbreak are different from European strains described so far, underlying the high genetic diversity of EIAV in Europe

P98

Genotypes de l'orthohantavirus Puumala détectés chez l'homme en France, 2012-2016

Jean-Marc Reynes¹, Damien Carli¹, Damien Thomas^{1*}, Guillaume Castel²

¹ *Centre national de référence des Hantavirus, Unité de biologie des infections virales émergentes, Institut Pasteur, Centre international de recherche en infectiologie, Université de Lyon, Inserm, U1111, École normale supérieure de Lyon, Université Lyon 1, CNRS UMR5308, Lyon*

² *CBGP, INRA, CIRAD, IRD, Montpellier SupAgro, Université Montpellier, Montpellier, France*

* *Adresse actuelle : Laboratoire P4 Inserm-Jean Mérieux, US003 Inserm, Lyon, France*

Le virus Puumala (PUUV) est le principal orthohantavirus détecté chez l'homme en Europe, mais aussi en France. Ce virus enveloppé à ARN tri-segmenté qui a pour hôte naturel le campagnol roussâtre est responsable d'une fièvre hémorragique à syndrome rénal très rarement mortelle. Les analyses phylogénétiques conduites avec les séquences du domaine codant (SDC) du segment S (codant la nucléoprotéine) de souches de PUUV ont permis de décrire 8 lignées de PUUV. Chaque lignée est constituée de clusters de variants bien structurés géographiquement. De plus, il a été montré que cette diversité génétique pouvait affecter les performances des techniques de diagnostic moléculaire utilisées chez l'homme. Ce génotypage est donc aussi essentiel pour le diagnostic de laboratoire de cette infection. Peu de séquences de souches françaises ont été étudiées et toutes ont été détectées chez le rongeur. Nous rapportons ici l'analyse des SDC de segments S de souches de PUUV détectés chez l'homme en France de 2012 à 2016. Dans le cadre de notre mission de surveillance, la SDC complète du segment S a été obtenue pour 77 des 228 souches détectées chez des cas humains de 2012 à 2016. Ces 77 souches étaient originaires de 17 des 34 départements d'endémie à hantavirus connus (quart nord-est de la France). L'analyse phylogénétique par maximum de vraisemblance fondée sur le SDC du segment S a montré que toutes les séquences françaises appartenaient à la lignée Europe centrale. Deux sous-lignées pouvaient être distinguées : la première portant la signature acide aminé Q64, incluant également des souches de Belgique et d'Allemagne et la seconde portant un R à cette position 64. Ces résultats confirmaient ceux obtenus chez le rongeur. Les souches Q64 étaient localisées dans le nord-est de la zone d'endémie tandis que les souches R64 étaient détectées dans le sud de la zone d'endémie. Les deux sous-lignées étaient présentes dans le département de l'Oise. Quelques disparités entre les séquences des souches françaises et celles des amorces et sondes utilisées pour certaines techniques de diagnostic moléculaire en temps réel ont été observées. Dans un futur proche, dans ce contexte d'échantillons humains de faible charge virale et de variabilité de souches, nos efforts seront centrés sur une meilleure amplification du SDC du segment S mais aussi des segments M et L, via des techniques de séquençage de nouvelle génération, dans le but d'obtenir davantage de séquences d'origines géographiques plus diverses. Cela permettra de développer des techniques de diagnostic moléculaire performantes et d'effectuer une analyse phylogéographique plus complète pour une meilleure description des souches de PUUV en France et d'en étudier leur évolution.