

Épidémiologie et environnement

Jeudi 22 mars, 14 h 00 à 15 h 15

Modération : Dominique Ponthier, Nicole Pavio

Communications orales : O11 à O15

Affiches : P56 à P76, P131, P132, P135, P136, P139

O11

Identification de virus à potentiel zoonotiques : application à la caractérisation de l'interface tique/homme en Thaïlande

Sarah Temmam¹, Thomas Bigot², Stéphane Petres³, Marc Desquesnes⁴, Delphine Chrétien¹, Elodie Devillers⁵, Lena Youssi⁵, Jean-François Cosson⁵, Muriel Vayssier-Taussat⁵, Serge Morand⁶, Sara Moutailler⁵, Marc Eloit¹

¹ Unité biologie des infections, Inserm U1117, Laboratoire de découverte de pathogènes, Institut Pasteur, Paris, France

² Hub de bioinformatique et biostatistique, C3BI, USR 3756 IP CNRS, Institut Pasteur, Paris, France

³ Plateforme technologique de production et purification de protéines recombinantes-C2RT, Institut Pasteur, Paris, France

⁴ Cirad UMR Astre, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Thailand, Thaïlande

⁵ UMR BIPAR, Laboratoire de santé animale, Anses, INRA, École nationale vétérinaire d'Alfort, France

⁶ Cirad UMR Astre, Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Thailand, Thaïlande

<sarah.temmam@pasteur.fr>

<marc.eloit@pasteur.fr>

Contexte et objectifs. Les zoonoses sont responsables de la majorité des infections virales chez l'homme. Les contacts de plus en plus fréquents avec la faune sauvage ainsi que l'expansion géographique des vecteurs arthropodes conduisent à l'exposition constante à des virus, connus ou non, de populations humaines souvent immunologiquement naïves pour ces virus. Ainsi, le projet LIPS-TICKS vise à identifier, au sein d'interfaces tique/homme très étroites, quels virus des tiques sont transmis de façon asymptomatique ou pauci-symptomatique chez l'homme, et quels virus ne sont pas transmis, avec une bonne valeur prédictive.

Méthodes. Nous avons tout d'abord établi le virome de tiques (appartenant aux genres *Amblyomma*, *Boophilus*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* et *Rhipicephalus*) de Thaïlande collectées sur bovins mais présentant un spectre d'hôtes vertébrés large par séquençage à haut débit. Les virus phylogénétiquement positionnés dans des groupes contenant des virus zoonotiques ou dans de nouveaux groupes pour lesquels le statut zoonotique est inconnu ont été sélectionnés. Les protéines structurales (glycoprotéine ou nucléoprotéine) des virus d'intérêt ont été exprimées en fusion avec la luciférase afin de servir d'antigène dans une réaction d'immunoprécipitation afin de cribler les sérums de personnes exposées à des tiques. Cette technique dite de LIPS (*Luciferase ImmunoPrecipitation System*) avait été préalablement validée sur des sérums (humains et porcins) contre le virus de l'hépatite E, où le LIPS s'était montré au moins aussi sensible que la technique Elisa de référence.

Résultats. Six nouveaux virus appartenant aux familles Flaviviridae, Rhabdoviridae, Phenuiviridae, Orthomyxoviridae et Chuviridae ont été identifiés car leur positionnement phylogénétique en fait de bons candidats à un possible franchissement de barrière d'espèce vers des animaux vertébrés. Le génome intégral de ces virus a été complété à partir des données de séquençage par des techniques de biologie moléculaire. Les glycoprotéines des thogotovirus et chuvirus identifiés ainsi que les nucléoprotéines des rhabdovirus et phlebovirus, et l'enveloppe du flavivirus ont

ensuite été exprimés en fusion avec la luciférase. Chez 148 personnes en contact, les recherches d'anticorps dirigé contre les protéines structurales de ces virus ont été négatives. Le criblage de sérums de bovins sur lesquels ont été collectées les tiques est en cours et devrait permettre de déterminer si ces virus sont des arbovirus ou sont spécifiques de tiques.

Conclusion. La technique de LIPS est un outil qui permet un criblage à haut débit de sérums (humains ou animaux) en vue de rechercher des indicateurs de transmission de virus depuis les espèces réservoir (faune sauvage ou vecteurs hématophages) vers des populations exposées. Identifier et comprendre pourquoi certains virus sont capables de franchir la barrière d'espèces et d'autres non est en effet la première étape nécessaire dans la prédiction des futures émergences.

O12

Détection sérologique d'infection par les virus de la dengue et du Zika sur des chevaux de Nouvelle-Calédonie et Polynésie française

Cécile Beck¹, Isabelle Leparç-Goffart², Denise Desoutter³, Estelle Deberge⁴, Hervé Bichet⁴, Gaëlle Gonzalez¹, Camille Migné¹, Stéphane Zientara¹, Benoît Durand⁵, Jessica Vanhomwegen⁶, Sylvie Lecollinet¹

¹ UMR 1161 Virologie, Anses-INRA-ENVA, France

² Unité des virus émergents (IRD 190, Inserm U1207, IHU Méditerranée Infection), Centre national de référence des arbovirus, Institut de recherche biomédicale des armées, Marseille, France

³ Direction des affaires vétérinaires alimentaires et rurales de Nouvelle-Calédonie, Nouvelle-Calédonie

⁴ Service du développement rural, Présidence de la Polynésie française, Polynésie française

⁵ LSA Unité épidémiologie, Anses, France

⁶ Cellule d'intervention biologique d'urgence (CIBU), Institut Pasteur, Paris, France

<cecile.beck@anses.fr>

De nombreux arbovirus circulent dans le Pacifique sud comme les virus de la dengue (DENV), du chikungunya et plus récemment du Zika (ZIKV). En 2015-2016, une enquête sérologique a été réalisée en Nouvelle-Calédonie et en Polynésie française afin de déterminer la séroprévalence de la population équine aux flavivirus. 293 sérums de chevaux ont été analysés avec un ELISA de compétition (ELISA-C) West Nile qui est non spécifique du flavivirus responsable de l'infection. Les sérums positifs ont ensuite été confirmés par une méthode d'immuno-essais sur billes (MIA) et par la technique de séroneutralisation. Cette enquête a montré que 16,6 % (27/163) des sérums de Nouvelle-Calédonie et 30,8 % (40/130) de Polynésie française étaient positifs par ELISA-C. Afin de connaître le flavivirus responsable de l'infection, une méthode MIA ciblant les flavivirus neuro-invasifs chez l'homme et/ou le cheval (*i.e.* fièvre du West Nile, encéphalite japonaise et encéphalite à tique) a été effectuée en priorité et s'est révélée négative pour plus de 85 % (57/67) des chevaux testés. Des tests de séroneutralisation avec les principaux flavivirus circulant dans le Pacifique sud ont alors été entrepris et ont révélé que 6,1 % (10/163 ; 95 % IC 1,7 %-8,6 %) des sérums équins calédoniens et 7,7 % (20/130 ; 95 % IC 3,8 %-13,7 %) des polynésiens étaient positifs pour le virus de la dengue sérotype 1 (DENV1) alors que 4,3 % (7/163 ; 95 % IC 1,7 %-8,6 %) des sérums équins calédoniens et 15,4 % (20/130 ; 95 % IC 9,7-22,8 %) des polynésiens étaient positifs pour le virus Zika (ZIKV). La séroprévalence pour les virus de l'encéphalite japonaise et du West Nile étaient comparativement beaucoup plus faibles (inférieure à 2 %). L'étude de séroprévalence dans la population équine montre que le cheval peut être infecté par ZIKV et DENV et que cette infection implique la séroconversion des chevaux. Les conséquences de cette infection sur la population équine ainsi que le rôle du cheval dans le cycle épidémiologique du ZIKV et DENV sont deux questions qui nécessiteraient des investigations plus approfondies.

O13**Virus influenza A H5N1 hautement pathogène en Afrique de l'Ouest, 2015-2018**

Maxime Fusade-Boyer¹, Pidémnéwé Pato², Mathias Komlan³, Koffi Dogno⁴, Trushar Jeevan⁵, Adam Rubrum⁶, Emmanuel Couacy-Hyman⁷, Daniel Batawui⁸, Emilie Go-Mar⁹, Pamela Mckenzy¹⁰, Richard Webby¹¹, Mariette Ducatez¹

¹ *Fusade-Boyer, UMR 1225 IHAP, France*

² *PATO, Togo*

³ *Komlan, Togo*

⁴ *Dogno, Togo*

⁵ *Jeevan, États-Unis*

⁶ *Rubrum, États-Unis*

⁷ *Couacy-Hyman, Côte d'Ivoire*

⁸ *Batawui, Togo*

⁹ *Go-Mar, Togo*

¹⁰ *McKenzy, États-Unis*

¹¹ *Webby, États-Unis*

<m.fusadeboyer@emvt.fr>

En avril 2018, au sud du Togo, du virus H5N1 hautement pathogène a été isolé dans un élevage avicole, entraînant une mortalité importante. Trente-deux autres isolats de H5N1 HP, collectés pendant l'épizootie qui s'est déroulée entre avril 2015 et octobre 2016 en Côte d'Ivoire ont également été analysés afin de comprendre l'origine de ces virus et leur évolution génétique. Pour cela, des analyses phylogénétiques basées sur les gènes de l'hémagglutinine (HA) et de la neuraminidase (NA) ont été réalisées et l'ancêtre commun le plus récent a été estimé par horloge moléculaire. D'après les analyses phylogénétiques, l'ensemble des isolats ivoiriens et togolais appartiennent à la clade 2.3.2.1c introduite en Afrique de l'Ouest en 2015. Que ce soit sur la base du gène HA ou NA, une faible diversité génétique entre les souches togolaises est observée, malgré une importante différence d'identité génétique par rapport aux souches les plus proches isolées en 2016 au Nigeria et au Cameroun. Tous les isolats togolais appartiennent à la sous-clade WA2 pour le gène HA et à la sous-clade WA1 pour le gène NA, ce réassortant ayant été préalablement décrit au Nigeria. Nous avons également pu établir que l'ancêtre commun le plus récent aux souches togolaises est estimé à octobre 2017 (95 % HPD: juin 2017, avril 2018) et celui commun aux souches nigérianes et camerounaises à septembre 2015 (95 % HPD: août-décembre 2015). Les souches ivoiriennes présentent entre elles une diversité génétique bien plus importante que celle observée pour les souches togolaises, suggérant de multiples introductions du virus en Côte d'Ivoire. De plus, si la plupart des souches ivoiriennes appartiennent à la sous-clade WA1 pour les gènes HA et NA, certaines résultent d'un réassortiment entre un gène HA appartenant à la sous-clade WA1 et un gène NA appartenant à la sous-clade WA2, une constellation jamais décrite parmi les multiples réassortants déjà observés au Nigeria. L'identité génétique importante entre les isolats togolais avec les souches les plus proches phylogénétiquement, ainsi que l'estimation des ancêtres communs les plus récents, suggèrent des failles dans les systèmes de surveillance ou bien une pression de sélection importante à l'origine d'une évolution plus rapide des souches togolaises. Si l'Afrique a longtemps été considérée comme un point froid vis à vis de l'influenza aviaire, la grande diversité génétique entre les différents isolats ivoiriens témoigne de multiples introductions du virus en Côte d'Ivoire. Ce qui, associé à la détection de nouveaux réassortants, laisse supposer la présence d'une charge virale importante et d'une circulation soutenue du virus H5N1 de clade 2.3.2.1c en Afrique de l'Ouest. Ceci justifie l'importance de maintenir une surveillance accrue dans cette zone, cette circulation représentant une menace pour la santé publique et la santé animale, d'autant plus que des virus H9N2 et H5N8 ont récemment été mis en évidence dans la région.

O14**Distribution spatio-temporelle et évolution du virus influenza A/H1N1 pandémique chez le porc en France depuis 2009 : émergence d'un nouveau génogroupe spécifique du porc**

Amélie Chastagner, Séverine Herve, Stéphane Queguiner, Edouard Hirschaud, Véronique Béven, Stéphane Gorin, Nicolas Barbier, Yannick Blanchard, Gaëlle Simon
Anses, Laboratoire de Ploufragan, Plouzané, Niort, France
<amelie.chastagner@anses.fr>

Le virus influenza A/H1N1(2009), initialement issu d'un réassortiment entre des virus influenza d'origines porcines, a été responsable de la pandémie grippale de 2009 (H1N1pdm) et s'est rapidement transmis de l'homme au porc dans de nombreux élevages du monde entier. Depuis, il est devenu saisonnier chez l'homme et a acquis un caractère enzootique dans les populations porcines, notamment en Europe. En France, la surveillance des virus influenza A porcins (swIAVs) responsables de syndromes respiratoires dans les élevages de porcs a permis de détecter 52 souches de virus H1N1pdm parmi les 1073 swIAVs identifiés entre 2009 et octobre 2018. Même s'il ne compte que pour moins de 5 % des swIAVs identifiés sur la période, le virus H1N1pdm a été détecté sans discontinuer tous les ans depuis janvier 2010. Comme les autres swIAVs, il a été isolé tous les mois de l'année, avec toutefois davantage de détections début 2016 et début 2018, pendant les épidémies hivernales chez l'homme. Il a été identifié sur l'ensemble du territoire, mais rarement en Bretagne, région de forte densité porcine où une grande proportion d'élevages est fréquemment infectée par d'autres swIAVs, ce qui laisse supposer une compétition entre sous-types viraux. Les génomes entiers de 21 souches de virus H1N1pdm isolées chez le porc, ainsi que les gènes codant l'hémagglutinine et la neuraminidase de six autres souches, ont été séquencés. Les reconstructions phylogénétiques ont révélé une forte similarité entre les souches H1N1pdm porcines et les souches H1N1pdm humaines contemporaines, soutenant l'hypothèse de transmissions *de novo* fréquentes de l'homme vers le porc pendant les épidémies saisonnières. Elles ont également révélé, pour la première fois, l'émergence d'un nouveau génogroupe au sein du lignage H1N1pdm, constitué uniquement de souches détectées chez le porc en 2015-2016 dans la moitié sud de la France et ayant accumulé de nombreuses mutations sur tous les gènes. L'horloge moléculaire suggère que la divergence entre ces souches adaptées au porc et les autres souches H1N1pdm évoluant chez l'homme et/ou transmises *de novo* au porc, aurait eu lieu autour de 2011. À ce jour, ces souches H1N1pdm porcines n'ont pas été associées à une virulence accrue dans les troupeaux de porcs. Également, elles restent proches des souches humaines au niveau antigénique, malgré les mutations observées dans certains épitopes. Cependant, l'évolution des virus H1N1pdm va se poursuivre, tant chez le porc que chez l'homme, et conduire, très probablement, à creuser une distance antigénique entre souches porcines et souches humaines, comme cela a été le cas pour d'autres virus humains introduits précédemment dans la population porcine. Ainsi, le porc pourrait devenir un réservoir pour des souches H1N1pdm vis-à-vis desquelles l'homme ne posséderait pas de protection immunitaire croisée, et/ou qui échapperaient à la protection vaccinale. Sachant que le virus H1N1pdm porcine, comme les autres swIAVs, est à potentiel zoonotique, il convient donc de poursuivre les efforts de surveillance et d'analyses comparées des virus H1N1pdm en circulation dans les deux espèces.

O15**Traquer la fièvre de la vallée du Rift : du Mali à l'Europe, 2016**

Christelle Tong¹, Emilie Javel, Gilda Grard², Aïssata Dia, Constance Lacrosse, Toscane Fourié³, Stéphanie Watier-Grillot, Renaud Lancelot, Franck Letourneur, Frédéric Comby, Martin Grau, Lionel Cassou, Jean-Baptiste Meynard, Sébastien Briolant, Isabelle Leparc-Goffart⁴, Vincent Pommier De Santi

¹ *Centre d'épidémiologie et de santé publique des armées (Cespa), France*

² *Centre national de référence des arbovirus, Unité d'arbovirologie HIA Laveran, Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA), Marseille, France*

³ *Unité de virologie, IRBA, France*

⁴ *Unité des virus émergents (IRD 190-Inserm U1207-IHU Méditerranée)*

Infection, Centre national de référence des arbovirus, IRBA, Marseille, France
<tosca.fourie@gmail.com>

En Septembre 2016, l'OMS confirme une épidémie de fièvre de la vallée du Rift (FVR) au Niger. La surveillance épidémiologique fut alors renforcée au sein des forces françaises déployées au Niger, Mali et Tchad. Fin octobre 2016, un cas probable de FRV a été identifié chez un militaire prélevé en mission au Mali en début de mois. Une investigation épidémiologique internationale fut menée afin de confirmer le cas et identifier des cas probables de FVR parmi les militaires déployés au moment de l'alerte. Le cas probable initial ne sera pas confirmé et 3 autres cas probables furent détectés et confirmés par diagnostic sérologique et moléculaire. Une persistance de l'ARN viral de FRV a été détecté par RT-PCR dans du sang total jusqu'à 67 jours après le début des symptômes alors qu'il était non détectable dans le sérum et le plasma. La persistance d'autres arbovirus comme le virus West Nile dans le sang total a été publiée et nous le décrivons ici pour la première fois pour le virus FVR. De plus, au moment du diagnostic, les patients étaient déjà rentrés en Europe dont la France (métropolitaine et Guyane) et la Grèce où la présence de vecteurs compétents est documentée. La population militaire, de par leurs expositions aux maladies infectieuses tropicales au cours de déploiement, est fortement susceptible d'importer des pathogènes en Europe.

P56

Le virus, l'escargot et le corail

Yvan Bettarel¹, Sébastien Halary², Jean-Christophe Auguet¹, Ngoc Van Bui³, Thierry Bouvier¹, Patrice Got¹, Corinne Bouvier¹, Sonia Monteil-Bouchard², Christelle Desnues²

¹ MARine Biodiversity Exploitation and Conservation (UMR Marbec) IRD : UMRD248, Ifremer : UMR9190, Université de Montpellier, CNRS UMR9190 Sète, France

² Microbes évolution phylogénie et infections (Mephi) IRD : UMRFRE2013, Aix-Marseille Université : UMRFRE2013, CNRS UMRFRE2013, IHU Méditerranée Infection, Marseille, France

³ Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Ha Noi, Vietnam
<yvan.bettarel@ird.fr>

L'activité de broutage de certains organismes marins représente une menace croissante pour la survie de nombreuses espèces de coraux à l'échelle globale. Par exemple, la prolifération récente du gastéropode corallivore *Drupella* est devenue critique dans toutes les eaux de l'Asie du Sud-Est et représente une réelle préoccupation pour les scientifiques et gestionnaires des écosystèmes récifaux. Si les dégâts causés par cet escargot marin sur les polypes coralliens sont relativement bien connus, l'incidence indirecte de la prédation sur le microbiome des coraux reste encore quasi inconnue, or nous savons maintenant qu'une altération de ce microbiome est susceptible de nuire à la santé des hôtes. Dans cette étude, nous avons comparé les principaux traits écologiques et génomiques des communautés bactériennes et virales présents dans la couche de mucus superficielle des scléactiniaires *Acropora formosa* et *Acropora millepora*, chez des individus sains et prédatés (c'est-à-dire colonisés par *Drupella*) dans la baie de Nha Trang (Vietnam). Nos résultats montrent un impact substantiel du gastéropode sur une variété de marqueurs microbiologiques. Les coraux colonisés hébergeaient des bactéries épibiotiques beaucoup plus abondantes et actives dont la composition de la communauté s'est déplacée vers des taxa plus pathogènes (appartenant aux ordres de Vibrionales, Clostridiales, Campylobacterales et Alteromonadales). Les épibiontes viraux ont également été fortement influencés par le broutage de *Drupella*, avec des modifications spectaculaires de leurs concentrations, de leurs stratégies de vie, de la richesse en génotypes et de la diversité. Par exemple, l'abondance des virus dans le mucus corallien a été fortement stimulée par le broutage de *Drupella*, qui a semblé davantage promouvoir le développement de phages virulents (à stratégie de reproduction lytique), tandis que les infections lysogéniques semble prédominer chez les coraux sains. Par ailleurs, d'abondants virus de type *circular Rep-*

encoding ssDNA (CRESS-DNA viruses) ont été détectés et caractérisés chez des coraux colonisés par *Drupella* ; nous suggérons que leur occurrence puisse servir d'indicateur de l'état de santé des coraux. Enfin, nos résultats montrent que les organismes corallivores sont capables de provoquer une dysbiose au sein du microbiome des coraux, en modifiant les interactions virus-bactéries dans la couche superficielle de mucus et, pour finalement favoriser le développement d'infections opportunistes locales.

P57

EV-D111, l'entérovirus qui venait du chaud

Marie-Line Joret^{1,2}, Serge Alain Sadeuh-Mba³, Marie-Claire Endegue-Zanga³, Richard Njouom³, Francis Delpeyroux^{1,2}, Ionela^{1,2}, Gouandjika-Vasilache⁴, Maël Bessaud^{1,2}

¹ Centre collaborateur de l'OMS pour les entérovirus et les vaccins viraux, WHO (OMS), Paris, France

² Unité de biologie des virus entériques, Institut Pasteur, Paris, France

³ Centre Pasteur du Cameroun, Yaoundé, Cameroun

⁴ Institut Pasteur de Bangui, Bangui, République centrafricaine
<mael.bessaud@pasteur.fr>

Le genre Enterovirus (famille Picornaviridae) regroupe de très nombreux virus dont certains sont pathogènes pour l'homme (poliovirus, entérovirus A71 etc.). Basée sur des critères phylogénétiques, la classification actuelle des entérovirus reconnaît 15 espèces d'entérovirus : Enterovirus A à L (EV-A à EV-L) et Rhinovirus A à C (RV-A à RV-C). Parmi celles-ci, les espèces EV-A, B et C et RV-A, B et C sont les mieux connues car elles sont constituées de virus infectant principalement l'homme ; au sein de chacune d'entre elles, plusieurs dizaines de types viraux ont été identifiés. En revanche, par bien des aspects, l'espèce EV-D reste mystérieuse. En premier lieu, seuls cinq types d'EV-D ont été identifiés. Par ailleurs, la nature même des EV-D connus est très variable : l'un des types (EV-D68) est un virus respiratoire tandis qu'un autre (EV-D70) a un tropisme oculaire marqué. Ensuite, les trois derniers types (EV-D94, 111 et 120), identifiés dans les années 2000 et 2010, ne sont connus que par quelques souches et n'ont jamais été observés en dehors d'Afrique ; l'hôte principal de ces virus n'est pas clairement établi : l'EV-D94 a été observé dans des échantillons de selles humaines et dans des eaux usées, l'EV-D120 n'a été détecté que dans des selles de primates tandis que l'EV-D111 a été isolé à partir de selles humaines et détecté dans des selles de primates. Afin de mieux caractériser le type EV-D111, les génomes de quatre des six souches connues ont été entièrement séquencés. Leur organisation est similaire à celle des autres entérovirus. Les études phylogénétiques montrent que les EV-D111 isolés chez l'homme et celui détecté chez un primate ne forment pas deux groupes distincts. Au sein de l'espèce D, les régions non-structurales des EV-D94 et des EV-D111 forment un groupe dont les séquences d'EV-D68 et d'EV-D70 sont exclues. De plus, nos résultats suggèrent l'existence d'évènements de recombinaison entre EV-D94 et EV-D111. L'EV-D111 partage de nombreux caractères phénotypiques avec l'EV-D94 : contrairement à l'EV-D68, il est totalement résistant aux pH acides et il peut infecter un grand nombre de lignées cellulaires dont les L20B, une lignée de cellules murines exprimant le récepteur du poliovirus. L'EV-D111 semble toutefois ne pas utiliser ce récepteur. Des études futures seront nécessaires pour définir l'aire de circulation de ces types d'EV-D récemment découverts en Afrique, dont l'EV-D111, et pour déterminer si l'homme est l'hôte principal de ces virus ou si ceux-ci sont des virus zoonotiques. Certains isolats d'EV-D94 et d'EV-D111 provenant de selles de patients avec un tableau de paralysie flasque aigüe, il conviendra également de déterminer leur pouvoir pathogène chez l'homme.

P58

De nouveaux Flaviviridae segmentés avec une répartition mondiale infectent un large spectre d'hôtes vertébrés et arthropodes

Sarah Temmam¹, Thomas Bigot², Philippe Péro¹, Mathilde Gondard³, Christopher Gorman⁴, Delphine Chretien¹, Elodie Devillers³, Thavry Hoem⁵, Valérie Pinarello⁶, Vibol Hul⁴, Khamsing Vongphayloth⁷, Stéphane Petres⁸, Veasna Duong⁴, Marc Grandadam⁷,

Emmanuel Albina⁶, Muriel Vayssier-Taussat³, Philippe Dussart⁴, Sara Moutailler³, Julien Cappellet⁶, Paul Brey⁷, Marc Eloit¹

¹ Unité biologie des infections, Inserm U1117, Laboratoire de découverte de pathogènes, Institut Pasteur, Paris, France

² Hub de bioinformatique et biostatistique, C3BI, USR 3756 IP CNRS, Institut Pasteur, Paris, France

³ UMR Bipar, Laboratoire de santé animale, Anses, INRA, École nationale vétérinaire d'Alfort, France

⁴ Unité de virologie, Institut Pasteur du Cambodge, Cambodge

⁵ Unité épidémiologie et santé publique, Institut Pasteur du Cambodge, Cambodge

⁶ Cirad, UMR Astre, Petit-Bourg, Guadeloupe, France

⁷ Institut Pasteur du Laos, Laos

⁸ Plateforme technologique de production et purification de protéines recombinantes, C2RT, Institut Pasteur, Paris, France

<sarah.temmam@pasteur.fr>

<marc.eloit@pasteur.fr>

Les virus à ARN présentent une grande variété d'organisation génomique, allant des virus simple brin de polarité positive ou négative aux virus double brin, linéaires ou circulaires, segmentés ou non. Les Flaviviridae sont des virus à génome ARN simple brin, de polarité positive et non segmentés, contenant de nombreux arbovirus capables d'infecter à la fois hôtes vertébrés et vecteurs invertébrés. Récemment, de nouveaux virus apparentés aux Flaviviridae ont été décrits : les Jingmenvirus. Le prototype de ce groupe de virus, le Jingmen tick virus (JMTV) a été isolé en 2014 en Chine à partir de tiques *Rhipicephalus microplus*. Le génome du JMTV est constitué de quatre segments, dont deux (correspondant aux gènes NS3 et NS5) ont une origine flavivirus ; les deux autres segments, codant les protéines structurales du virus, sont d'origine inconnue bien que des analogues aient été trouvés dans le génome du nématode *Toxocara canis*. Ce virus présente un spectre d'hôtes remarquable allant des tiques aux bovins et aux primates. Il pourrait représenter un nouveau virus zoonotique. Au cours de l'inventaire des communautés virales infectant divers genres de tiques collectées en France, dans les Caraïbes et au Laos ainsi que de chauve-souris frugivores du Cambodge, nous avons mis en évidence la présence de nombreuses séquences apparentées au JMTV. Nous avons ainsi obtenu le génome complet de JMTV-like provenant de tiques françaises, caribéennes et laotiennes, ainsi que d'urine de chauve-souris frugivores (*Pteropus lylei*) du Cambodge. Nos analyses phylogénétiques basées sur la séquence de la polymérase virale montrent que les jingmenvirus-like pourraient former un nouveau genre au sein des Flaviviridae, qui serait lui-même subdivisé en deux clades : le premier constitué de jingmenvirus infectant divers insectes, et le second infectant à la fois des tiques et des hôtes vertébrés (chauve-souris, primates dont l'homme) qui correspondraient à des arbo-jingmenvirus. Les résultats de l'étude de transmissibilité de ces virus à des humains exposés aux morsures de tiques ou aux urines de chauve-souris seront présentés. Elle est basée sur la recherche d'anticorps chez les personnes en contact par la technique de LIPS (*Luciferase Immunoprecipitation System*), une technique sérologique utilisant comme antigène un lysat de cellules exprimant transitoirement des protéines de fusion protéine virale-gène de la luciférase.

P59

Différentiation de deux variants génétiques d'un mimivirus d'esturgeon par analyse HRM

Laurane Pallandre¹, Mélanie Lesne, Claire De Boisson, Amélie Charrier, Patrick Daniel, Arthur Tragnan, Bastien Debeuf, Valérie Chesneau, Laurent Bigarré²

¹ Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) Ploufragan/Plouzané Laboratory, Unit of Viral Genetics and Bio-security, Ploufragan, France

² Anses, ministère de l'Alimentation de l'Agriculture et de la Pêche, Technopôle Brest Iroise, Plouzané, France
<laurent.bigarre@anses.fr>

Plusieurs espèces d'esturgeon sont hôtes de virus spécifiques appartenant au vaste groupe des NCLDV (*Nucleo Cytoplasmic Large DNA Virus*). Récemment, il a été montré que ces virus, initialement classifiés parmi les Iridoviridae, étaient en réalité génétiquement bien plus proches des Mimiviridae. L'un de ces virus (AcIV-E) semble prévalent dans les élevages européens pouvant provoquer des épisodes de morbidité et mortalité sur les esturgeons russes et sibériens (*Acipenser gueldenstadtii* et *A. baerii*). L'intensité de ces épisodes est très variable et dépend de facteurs multiples (espèce hôte, stress, souche virale, température de l'eau, etc.). Il a été montré la présence de deux variants génétiques de ce virus (var1 et var2), distincts d'au moins 5 nucléotides regroupés dans le gène de la capsid majeure (MCP). Nous avons ciblé ce marqueur moléculaire pour développer un test discriminant les 2 variants connus par analyse de fusion à haute-résolution (HRM). Le test montre une différence de 1°C de Tm entre les 2 allèles (sous forme de plasmides contenant un fragment de la MCP) et peut détecter 100 molécules de plasmides recombinants. Cependant, des mélanges contrôlés (ratios de 1:80 à 1:5) des 2 allèles donnent un pic unique de fusion avec un Tm identique à celui de la molécule dominante. À des ratios déséquilibrés, le variant minoritaire n'est pas donc détecté si l'on se considère uniquement le Tm spécifique. Néanmoins, une anomalie (dépression) de la dérivée de la courbe de fusion apparaît systématiquement avant le pic de fusion pour les mélanges artificiels à des ratios de 1:5 à 1:40. Cette anomalie a été interprétée comme résultant de la fusion de molécules hétéroduplexes créées pendant la PCR et s'avère donc révéler la présence dans la matrice de départ de 2 molécules différentes. Le test HRM a été appliqué avec succès à des échantillons de poissons issus de 3 fermes françaises. Sur 128 échantillons diagnostiqués positifs, tous sont porteurs du variant 2 et aucun du variant 1 seul. Toutefois, 7 échantillons contiennent un mélange de var1 et de var2, ce dernier étant majoritaire quantitativement. Ce test HRM s'avère donc un outil fonctionnel, simple et peu onéreux pour étudier à l'échelle continentale l'épidémiologie des var1 et var2 du mimivirus d'esturgeon européen.

P60

La clonalité rétrovirale chez des primates non humains naturellement co-infectés par différents rétrovirus exogènes : STLV-1, SIV-1 et SFV

Brice Jegado¹, Magali Naville², Sandrine Alais¹, Joelle Tobaly-Tapiero³, Barthélémy Ngoubangoye⁴, Augustin Mouinga-Ondémé⁴, Romain Lacoste⁵, Jean-Nicolas Volf², Charles Bangham⁶, David Fouchet⁷, Jocelyn Turpin⁶, Renaud Mahieux¹

¹ Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), CIRI, Inserm, U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Univ Lyon, Labex Ecofect, Fondation pour la recherche médicale Lyon, France,

² Institut de génomique fonctionnelle de Lyon (IGFL), École normale supérieure Lyon, INRA UA1288, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, Lyon, France

³ Pathologie et virologie moléculaire, Inserm, U944, Université Paris Diderot, Institut universitaire d'hématologie (IUH) CNRS, UMR7212, Paris, France

⁴ Centre international de recherches médicales de Franceville (CIRMF), Franceville, Gabon

⁵ Centre de primatologie, CNRS (France), France

⁶ Imperial College London, South Kensington Campus, London SW7 2AZ, Royaume-Uni

⁷ Laboratoire de biométrie et biologie évolutive (LBBE), Université Claude-Bernard Lyon 1, Inria, CNRS, Villeurbanne, France
<brice.jegado@ens-lyon.fr>

L'homme peut être infecté par au moins trois espèces différentes de rétrovirus exogènes : HTLV (*Human T Lymphotropic Virus*), HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) et HFV (*Human Foamy Virus*). Alors que HTLV et HIV sont pathogènes chez l'homme et qu'une transmission interhumaine est possible, HFV quant à lui provoque une infection asymptomatique et aucun cas de transmission interhumaine n'a été rapporté. Une transmission inter-espèces depuis des primates non-humains est à l'origine

de l'infection de l'espèce humaine. En effet, les virus STLV-1 (*Simian T Lymphotropic Virus type 1*), SIV-1 (*Simian Immunodeficiency Virus type 1*) et SFV (*Simian Foamy Virus*) sont, respectivement, les virus homologues des rétrovirus HTLV-1, HIV-1 et HFV. De plus, ces virus ont un tropisme similaire (lymphocyte T). Cependant si HTLV-1 et STLV-1 favorisent l'expansion clonale, HIV-1 et SIV-1, eux, engendrent l'apoptose cellulaire. D'autre part, certains cas de co-infections naturelles (HIV-1/HTLV-1, HTLV-1/HFV ou SFV/STLV-1) ont été répertoriés. La quantification de la charge provirale (PVL) des virus STLV-1 et SFV nous a permis de montrer que la co-infection par STLV-1 est associée à une augmentation de la PVL de SFV chez des babouins naturellement co-infectés, par comparaison avec les singes infectés par SFV uniquement. De plus, nous avons pu démontrer que la protéine Tax du virus HTLV-1 pouvait transactiver le promoteur du virus HFV. Nous souhaitons donc déterminer si cette augmentation de la PVL de SFV est médiée par la réplication du virus STLV-1 ou si SFV est capable d'activer l'expansion clonale des cellules infectées. Pour cela, nous mettons actuellement au point une technique de *Ligation Mediated-PCR* (LM-PCR) associée à du séquençage haut-débit dans le but de cartographier les sites d'intégration du provirus SFV et de quantifier le nombre de cellules sœurs associées à chaque clone. Nous étudions la distribution clonale des virus SFV et STLV-1 chez deux espèces de primates non-humains, le babouin (*Papio anubis*) et le mandrill (*Mandrillus sphinx*), naturellement infectés par l'un et/ou l'autre de ces virus. L'influence de l'infection par SIV-1 chez le mandrill fait également partie de nos axes de recherche. Des résultats préliminaires suggèrent pour la première fois que le rétrovirus SFV aurait la capacité d'induire l'expansion clonale des cellules infectées pour se répliquer chez des primates non-humains mono-infectés. La contribution relative de l'expansion clonale et de la réplication virale des virus SFV et STLV-1 *in vivo* est en court d'évaluation. Par la suite, nous évaluerons la clonalité de SFV chez des singes naturellement co-infectés avec SIV-1 qui, contrairement à STLV-1, induit la mortalité cellulaire au sein de son hôte. Dans un futur proche, une analyse globale sera réalisée afin de créer un modèle statistique sur la dynamique de la clonalité rétrovirale. L'étude de la clonalité représente un outil puissant pour mieux comprendre la dynamique rétrovirale dans le cas de co-infections naturelles chez l'hôte. Cela pourrait être étendu par la suite aux co-infections identifiées chez l'homme.

P61

Étude de la diversité des norovirus dans les eaux usées par métagénomique

Sofia Strubbia, Julien Schaeffer, Alban Besnard, Soizick Le Guyader
Ifremer, Laboratoire de microbiologie, Nantes, France
<sofia.strubbia@ifremer.fr>

Les norovirus (NoV) sont des petits virus nus, à ARN positif, responsables de gastroentérites chez l'homme. Ils présentent une diversité génomique très importante et de nombreux recombinaisons sont caractérisés, souvent responsables d'une augmentation importante de cas cliniques. Les NoVs sont très résistants dans le milieu extérieur, et l'environnement joue un rôle important dans leur transmission en particulier *via* la consommation d'aliments contaminés par des eaux insuffisamment traitées. Maladie relativement bénigne, le nombre de personnes infectées est largement sous-estimé si l'on considère les concentrations importantes détectées dans les eaux usées. L'analyse de la diversité virale dans ces eaux usées pourrait constituer une approche intéressante pour étudier l'épidémiologie moléculaire de ces virus, approche limitée à l'heure actuelle en raison du manque de méthode sensible. Après divers essais, un protocole permettant la sélection des petites particules (inférieure au μM) et résistantes aux pH acides (caractéristiques des NoVs), l'élimination des bactéries et des acides nucléiques libres, a été appliqué à trois échantillons d'eau usée prélevée pendant la période de gastro-entérite hivernale. Les librairies ont été séquençées sur un Illumina MiSeq (kit MiSeq V3, Illumina) pour générer des fragments de 2 x 300 bp. Pour l'analyse bio-informatique, après élimination des adaptateurs et vérification de la qualité, les fragments ont été assemblés en utilisant SPAdes et les séquences virales identifiées

et classées en utilisant le pipeline d'analyse SLIM. Après assemblage des fragments en utilisant Geneious, les séquences correspondant à des génomes de NoV ont été génotypées en utilisant l'outil Norovirus genotyping tool v2.0. Malgré les étapes de concentration sélection mises en place, les séquences correspondant à des NoVs étaient très minoritaires (< 1 %), mais néanmoins des séquences d'intérêt ont été obtenues. Ainsi six génomes complets ont été identifiés, et trois fragments représentant plus de 50 % du génome ont également été obtenus. Obtenir de longs fragments est un point important si l'on veut identifier les souches présentes considérant la variabilité génomique des NoVs et leur capacité à créer des recombinaisons. Cette approche, bien que devant être optimisée, montre son intérêt pour étudier l'épidémiologie moléculaire des NoVs et évaluer l'impact des traitements des eaux usées sur l'élimination sélective de certaines souches. À terme, l'analyse des eaux usées par la métagénomique en permettant l'identification des souches émergentes permettra d'être vigilant et de limiter la diffusion de ces souches dans la population.

P62

EpiMetHeos: Modelling HPV burden in the general population using dynamic networks of sexual partnerships

Damien Georges, Iacopo Baussano
International Agency for Research on Cancer (IARC) Organisation mondiale de la santé (OMS/WHO) Lyon, France
<georgesd@iarc.fr>

In May 2018, the Director-General of the World Health Organization made a call for action towards the elimination of cervical cancer as a public health problem. Worldwide, mathematical modelling has become a standard tool in the planning and evaluation of public health interventions. Sexually transmitted HPV infection with carcinogenic HPV types is a necessary cause of cervical cancer, and highly effective preventive vaccines targeted to the most carcinogenic types have been licensed. Understanding the determinants of HPV circulation in a population is essential in optimizing the introduction of these vaccines worldwide. As for other sexually transmitted infections, the dynamics of HPV infection in a population is driven by four main processes, namely population demographics, sexual networking, natural history of infection and public health interventions (*e.g.* vaccination campaign). Modelling sexual partnership networks is probably the most challenging step. To assess the potential impact of vaccination in large populations (*e.g.* national, regional), it is crucial to condense key information on network determinants, usually collected through population-based egocentric surveys, into a limited set of variables.

Methods. We have built an open-source Agent-Based Model (ABM) HPV transmission model to represent HPV circulation and burden in the general population. Sexual networks are represented using the statistical framework of temporal exponential-family random graph models to fit and simulate dynamic models of sexual partnerships, and egocentric sexual behavioural data to feed the network model. Written in the R language, EpiMetHeos is an extension of the general network-based epidemic modelling platform EpiModel combining Statnet methods with an agent-based epidemic modelling engine to simulate HPV transmission over sexual networks, allowing for complex dependencies between the network and epidemiological and demographic changes in the simulated populations. **Results.** As a study case, we trained EpiMetHeos on high-quality datasets from Rwanda. We fitted three inter-dependent dynamic networks to represent respectively long term, short term and one-off sexual partnership occurrence. We projected the expected impact of HPV vaccination under different assumptions of network and demographic patterns.

Discussion. Reproducing sexual network dynamics poses two major challenges. Firstly, in terms of modelling, choosing a relevant and sufficient set of summary statistics to represent sexual networks is not easy and may strongly influence projections. In addition, as the number of individuals increases, fitting network models becomes a computing burden. Secondly, in terms of available data, information from surveys is usually based on egocentric data collection, *i.e.* respondent's partner(s) information is indi-

rectly collected. Self-reporting and limited confidentiality of the interview setting may lead to underreporting of sexual activity. Sampling methods of multipurpose surveys may also fail to capture the behaviour of highly sexually active individuals (hubs), such as sexual workers. Finally, multipurpose surveys usually provide limited details on sexual partnerships.

Conclusions. The model-based representation of HPV circulation and burden in the general Rwandese population is based on some key assumptions which influence the expected impact of vaccination effectiveness. Epi-MetHeos may improve the accuracy of estimates of the impact of HPV vaccination

P63

Epidemiology of respiratory syncytial virus circulating in Lyon, France, between 2014 and 2018

Alexandre Gaymard^{1,2}, Maxime Pichon³, Marine Ibranosyan, David Barthelemy², Quentin Semanas², Bruno Simon², Sibyle Etievant², Emilie Frobert^{2,1}, Martine Valette², Maude Bouscambert², Geneviève Billaud², Bruno Lina^{2,1}, Jean-Sebastien Casalegno^{1,2}, Laurence Josset^{1,2}, Florence Morfin^{1,2}

¹ *Équipe Virpath, CIRI, Inserm, U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Univ Lyon, Lyon, France*

² *Laboratoire de virologie, Centre de biologie et pathologie Nord, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices civils de Lyon, Lyon, France*

³ *CHU de Poitiers, Département des agents infectieux, Poitiers, France*
<alexandre.gaymard@chu-lyon.fr>,
<marine.ibranosyan@chu-lyon.fr>

Background. Human respiratory syncytial virus (RSV) is one of the main causes of severe respiratory tract infections (RTI) in young children and is also reported in adult patients, especially after 65 years old. RSV are divided into two groups based on antigenic variations in the G-glycoprotein, RSV-A and RSV-B, including 11 and 38 genotypes, respectively. The therapeutic arsenal against RSV is limited to ribavirin, which is rarely used due to its significant side effects; and to Palivizumab, a monoclonal antibody targeting RSV post-fusion-F protein used to reduce the risk of severe RTI disease. No vaccine is available for RSV even if candidates are currently investigated. In this context, characterization of the evolving RSV epidemiology has become a major concern for development of preventive strategies. To date, epidemiology data are still limited because national and international surveillance systems are in their infancy.

Objectives. This retrospective study aimed to investigate RSV epidemiology among all patients, consulting or hospitalized with mild or severe RTI in the Hospices Civils de Lyon (HCL), France, between 2014 and 2018 epidemics.

Methods. Between May 2014 and April 2018, all respiratory samples received by the virology laboratory of the HCL, from patients with mild or severe RTI were routinely screened for RSV by RT-PCR using Respiratory MWS RSV/hMPV r-gene (bioMérieux). Among the RSV-positive cases, 150 samples were selected from the RSV peak of each year. These samples were used to further investigate phylogenetic and genotype characterisation by Sanger sequencing the second hypervariable region of the G-gene.

Results. During the study period, 27,560 respiratory samples were received and 3,127 (11 %) were tested positive for RSV (range from 12 % (2014-2015) to 10 % (2017-2018)). Among the RSV-positive cases, sex ratio (male/female) was 1.2. RSV-positive samples were mostly found in patients ≤ 6 months of age (median age ranged from 4 (2015-2016) to 5 months (2014-2015)). The prevalence of RSV infection decreased significantly according to age. Genetic characterization of RSV circulating in Lyon between 2014 and 2018 showed co-circulation of RSV-A and RSV-B. All the RSV-A-positive cases since 2014-2015 were classified as ON1 genotype and almost all RSV-B were classified as BA9 or BA10 genotypes.

Conclusion. Studies on RSV epidemiology have to be pursued. RSV surveillance could be derived from influenza surveillance system, espe-

cially as a new vaccine candidate (RSV F nanoparticle) is currently under investigation (phase III).

P64

Prévalence et impact clinique des co-infections par le VHD chez les patients co-infectés VIH-VHB au CTA de Nouakchott

Ahmed El Bara^{1,2,3}, Adeline Pivert^{1,2}, Mazouz Vall, Cindy Ngwing Sang¹, O Barikalla⁴, Mohamed Abdellahi Bollahi³, Pascal Veillon^{1,2}, Françoise Lunel-Fabiani^{1,2}, Hélène Le Guillou-Guillemette^{1,2}

¹ *Laboratoire de Virologie, CHU Angers, Institut de Biologie en Santé rue des Capucins, France*

² *Laboratoire Hifih Upres EA3859, UFR Santé, Université d'Angers, France*

³ *INRSP Nouakchott, Mauritanie*

⁴ *CTA Nouakchott, Mauritanie*

<adpivert@chu-angers.fr>

Chez le patient mono-infecté par le VHB, la prévalence des surinfections Delta, en Mauritanie, varie de 10 à 30 % des cas en fonction des populations. Chez le patient co-infecté VIH-VHB, il n'y a pas de données en Afrique subsaharienne ni en Mauritanie. Une étude préliminaire montrait un taux de prévalence de l'AgHBs de 27 % chez les PV-VIH-1 et un taux de surinfection delta entre 30 et 40 % comparable ou un peu plus élevé que celui observé chez les patients mono-infectés VHB. Une enquête a donc paru indispensable pour préciser ces chiffres, apprécier les conséquences en termes de fibrose hépatique et prévoir une prise en charge de ces patients. L'objectif principal est l'étude de l'impact, en termes de morbidité hépatique, de la co-infection par le VHD chez les patients porteurs d'une co-infection VIH-VHB suivis au centre de traitement ambulatoire (CTA) de Nouakchott, Mauritanie. Les objectifs secondaires sont : i) d'estimer plus précisément le taux de prévalence de la co-infection par le VHD ; ii) d'étudier l'impact clinique de la co-infection par le VHD chez les PVVIH ; iii) d'étudier les caractéristiques cliniques de ces co-infections ; iv) d'assurer la formation d'une équipe de virologie opérationnelle locale. L'étude débutée en 2018 prévoyait l'inclusion de 300 patients consécutifs PV-VIH-1 nouvellement pris en charge ou déjà traités au CTA et trouvés porteurs de l'AgHBs ce qui représente 20 % de la population suivie au CTA. Un recueil des données épidémiocliniques et biologiques est réalisé à la visite d'inclusion. Au 31/10/2018, nous avons inclus 199 patients infectés par le VHB (AgHBs positifs) sur 300. Les patients ont un âge moyen de 38,4 ans, le sexe ratio H/F est de 1,08, la charge VIH-1 est détectable chez 106 patients (moyenne : 5,8 log cop/mL (1,3-7,1 log cop/mL)). La prévalence de l'AgHBs est de 15 % et la charge VHB (seuil à 10 UI/mL) est détectable chez 63 % des patients inclus (charge virale moyenne : 7,3 log UI/mL (1,11-8,81 log UI/mL)) ; la prévalence des Ac anti Delta est de 32 %. Les données épidémiologiques, cliniques, et biologiques (score de fibrose hépatique), et la caractérisation virologique des infections (charges virales VHD, génotypes VHB et VHD, recherche de résistances, quantification de l'Ag HBs) sont en cours. Ces résultats préliminaires suggèrent une prévalence élevée de l'infection VHB chez les PVVIH-1 en Mauritanie et montrent l'exceptionnelle fréquence des co-infections par le VHD chez ces patients qui devront faire l'objet d'études approfondies et d'un programme spécifique de traitement.

P65

Évolution et recombinaison du coronavirus Humain NL63 (HCoV-NL63) : une analyse incluant des données de Normandie, France 2004-2017

Meriadeg Le Gouil^{1,2}, Nathalie Kin^{2,3}, Fabien Miszczak², Adeline Letrouit^{1,2}, Laure Diancourt⁴, Valérie Caro⁴, Astrid Vabret^{1,2}

¹ *Université de Caen Normandie, Groupe de recherche sur l'adaptation microbienne, EA2656 (UniCaen), Université de Caen Normandie Caen, France*

² *CHU Caen, Caen, France*

³ Université de Caen Normandie, Groupe de recherche sur l'adaptation microbienne, EA 2656 (GRAM), Caen, France

⁴ Environnement et risques infectieux (ERI) Département infection et épidémiologie, Institut Pasteur, Paris, France
<meriadeg.legouil@normandie-univ.fr>

Le coronavirus humain NL63 (HCoV-NL63), montre une circulation épidémique saisonnière, comme les HCoV-229, HCoV-OC43 et HCoV-HKU1, tous responsables d'infections respiratoires hautes. Ils peuvent provoquer des infections respiratoires sévères chez l'enfant, l'immunodéprimé ou les personnes âgées. L'HCoV-NL63 est le plus prévalent des coronavirus humain avec l'HCoV-OC43 et l'HCoV-NL63. Avec une primo-infection avant les 3 ans, c'est le coronavirus rencontré le plus tôt dans l'enfance. Bien que la majorité des cas demeurent non-sévères, ce coronavirus entraîne souvent une consultation médicale. L'épidémiologie et l'évolution de ce coronavirus ubiquitaire sont très peu connues. L'émergence de coronavirus emblématiques comme le MERS-CoV et le SARS-CoV enjoignent à la prudence et font recommander l'étude de l'évolution et de la circulation des coronavirus, y compris ceux infectant l'humain depuis des dizaines d'années et habituellement considérés comme bénins. Cinquante-cinq prélèvements respiratoires humains, échantillonnés de 2004 à 2017, de patients souffrant d'infections respiratoires aiguës haute ou basse, ont été sélectionnés par criblage multiplex-luminex dans la collection de spécimens cliniques du service de virologie de l'hôpital universitaire de Caen. Des gènes et des génomes complets ont été obtenus par séquençage Sanger et par séquençage de long fragment de dernière génération (Minion - Oxford-Nanopore Technologies, UK). Ces données ont été analysées avec les données disponibles pour reconstituer l'histoire phylogénétique des groupes et identifier les recombinaisons potentiels. Le HCoV-NL63 montre de fréquentes recombinaisons intra-spécifiques. Cinq nouveaux génotypes ont été détectés et jusqu'à 3 clades co-circulaient durant les saisons épidémiques. Ces coronavirus sont des recombinaisons, descendants directs des clades majoritaires circulant ces 12 dernières années. Ceci illustre la diversité croissante et la dynamique évolutive importante du HCoV-NL63. Chaque saison épidémique produit de nouveaux variants potentiellement recombinaisons. La dérive génétique, les pressions de sélection et les recombinaisons durant des saisons épidémiques entraînent l'évolution du HCoV-NL63 et semblent assurer la diversification et la permanence de ce groupe. La diversification et la circulation épidémique persistante dans la population humaine pourraient favoriser des modifications de tropisme ou un franchissement de barrière d'espèce du HCoV-NL63.

P66

Diversité et définition des virus géants isolés de l'environnement

Philippe Colson, Bernard La Scola, Anthony Levasseur, Didier Raoult
Mephi, IHU Méditerranée Infection, Aix-Marseille Univ. AMU Marseille, France
<philippe.colson@univ-amu.fr>
<didier.raoult@gmail.com>

Le premier virus géant, Mimivirus, a été découvert en 2003. Depuis, plusieurs dizaines d'autres virus géants ont été isolés, révélant une diversité importante de leurs caractéristiques phénotypiques et génotypiques. Ces virus sont visibles au microscope optique, ce qui en fait des microbes dépourvus de ribosomes, et en plus de la taille de leurs virions et génomes, ils diffèrent des virus classiques par plusieurs autres caractéristiques. Nous décrivons ici la diversité des virus géants et les éléments les définissant. L'isolement des virus géants a été essentiellement réalisé par culture sur des amibes du genre *Acanthamoeba* et *Vermamoeba* ou sur des algues unicellulaires, à partir de prélèvements environnementaux d'eaux et de sols. Les génomes des virus prototypes de chaque groupe et de plusieurs dizaines d'autres virus ont été obtenus par séquençage à haut débit. Des données de protéomiques et/ou de transcriptomiques sont disponibles pour plusieurs de ces virus. Les virus géants apparaissent communs dans notre biosphère. Ils ont été isolés à partir de prélèvements d'environnements

variés incluant eaux salées et douces et sols collectés sur les 5 continents. Ils sont actuellement classés en neuf familles ou groupes sur la base d'analyse phylogénomiques, et de leurs morphologies et réplication. Plusieurs critères définissant les virus classiques ne s'appliquent pas à ces virus géants. Ils diffèrent en premier lieu par la taille de leurs particules (200-1500 nm) et de leurs génomes (347-2474 kilobases). Les virions contiennent plus d'une centaine de protéines et des transcrits. Certains (les pandoravirus, pithovirus, cedratvirus, orpheovirus) possèdent un tégument externe sans morphologie de capsid connue. Les génomes des virus géants comportent 444-2544 gènes. Ceux-ci incluent un noyau restreint de gènes montrant une monophylie de ces virus, et des proportions importantes de gènes ORFans. De nombreux gènes des virus géants leurs sont uniques dans la virosphère. Notamment, certains codent des composants de la traduction. Les tupanvirus, des mimivirus à queue, possèdent le jeu actuellement le plus complet de tels gènes (les 20 aminocyl-ARNt synthétases, 67-70 ARNt, et 11 facteurs de traduction) et 2 copies d'une région intronique de l'ARNr 18S. Les génomes des virus géants comportent aussi des proportions importantes de séquences échangées latéralement, générant un niveau substantiel de mosaïcisme génétique. De plus, les premiers virus de virus, nommés virophages, ont été décrits comme infectant les usines des mimivirus. Ces mimivirus possèdent un mobilome spécifique incluant des pro-virophages et des transpovirons, et ils peuvent aussi se défendre contre les virophages par intégration de fragments de leur ADN, via un système nommé Mimivire. Au total, les virus géants séparent actuellement la virosphère en deux groupes : l'un composé des virus classiques simples et l'autre composé de virus ayant une complexité similaire à celle des microbes. Ces virus géants, dont l'origine est discutée, sont des composants communs, auparavant négligés, de l'environnement. De plus, ils ont été, plus rarement, détectés et isolés chez l'homme.

P67

Variabilité du temps d'incubation du virus Zika chez les humains

Toscane Fourie¹, Gilda Grard², Isabelle Leparac-Goffart³, Albin Fontaine¹
¹ IRBA Marseille, France
² Centre national de référence des arbovirus, Unité d'arbovirologie HIA Laveran IRBA, Marseille, France
³ Unité des virus émergents (IRD 190, Inserm U1207, IHU Méditerranée Infection), Centre national de référence des arbovirus, IRBA, Marseille, France
<toscanefourie@gmail.com>

Le virus Zika (ZIKV) est un virus transmis par les moustiques (arbovirus) qui a récemment émergé dans de nombreux pays tropicaux à travers le monde. L'Europe héberge des moustiques pouvant transmettre ce virus. L'impossibilité de déterminer la date d'une piqûre conduisant à une infection symptomatique chez l'homme rend l'estimation de la distribution des périodes d'incubations d'arbovirus difficile. Dans notre étude, nous avons utilisé des méthodes d'analyses de survie adaptées à des données censurées par intervalle pour estimer le temps d'incubation de ZIKV à partir des dates de voyages déclarées et des dates d'apparition des symptômes de 123 voyageurs symptomatiques revenant en France depuis des zones de transmission actives du virus. Il s'agit de la première étude d'estimation du temps d'incubation de ce virus basée sur un aussi grand nombre de patients tous diagnostiqués par RT-PCR. La médiane et le 95^e percentile du temps d'incubation de ZIKV est respectivement estimé à 6,8 jours (intervalle de confiance 95 % : 5,8 à 7,7 jours) à 15,4 jours (intervalle de confiance 95 % : 12,7 à 19,7 jours). Nos résultats renforcent les estimations déjà publiées. La détermination de la distribution du temps d'incubation de ZIKV peut améliorer les recommandations sanitaires et affiner les modèles épidémiologiques afin de mieux prévoir et contrer la menace d'émergence de ZIKV en Europe.

P68

Comprehensive analysis of epidemiological unfeasible bovine herpesvirus 1 (BoHV1) singleton reactors in certified BoHV1-free herds in France

Stephen Valas, Isabelle Brémaud, Sophie Stourm, Benoit Croisé, Sophie Mémeteau, David Ngwa-Mbot, Marc Tabouret
Laboratoire national de référence pour l'IBR, Laboratoire de Niort, Anses, Niort, France
 <stephen.valas@anses.fr>

Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) is recognized as an important disease of livestock industry caused by Bovine Herpesvirus 1 (BoHV1), a worldwide distributed pathogen belonging to the genus *Varicellovirus* in the *Alphaherpesvirinae* subfamily. BoHV1 infection can induce direct production losses through reduced milk yield, weight loss, abortions, infertility, and higher susceptibility to secondary bacterial infections. Eradication programs have been implemented at national or regional levels in several European countries. These programs rely on serological monitoring and subsequent vaccination and/or removal of positive animals. In France, a voluntary eradication program based on the test-and-removal strategy started in 1996, resulting in a national certification rate of 66 % in 2014. However, the proportion of certified BoHV1-free herds which experienced unexplained singleton reactors steadily increased to reach up to 95 % in 2015, strongly hampering evolution of the epidemiological situation. The aim of this study was to collate and evaluate serological data to gain insight into these epidemiological unfeasible BoHV1 seropositive animals. Preliminary evaluation of the performances of BoHV1 ELISA kits using a collection of 997 field bovine sera with well-known status revealed a relatively low specificity of the gB competitive ELISAs most used in France for monitoring (93.2 % and 97.5 % for gB-IDVet and gB-Idexx, respectively). Reassessment of the cut-offs led to a specificity and a sensitivity higher than 99.3 %. Consequently, a comprehensive analysis of gB-positive sera from 2551 singleton reactors was performed by using gB ELISAs with optimized cut-offs, combined with viral neutralization test (campaign 2014-2015) or gE ELISA (campaign 2015-2016). Fifty percent of the 728 sera collected in 2014-2015 exhibited reactivity below the optimized cut-offs in both gB ELISAs. Analysis of new blood samples collected at a minimum 6-week interval showed that most of these weak-positive reactions did not increase with time and could not be confirmed by VNT. Among the 1823 sera collected in 2015-2016, only 84 samples tested positive by gE ELISA, 93 % of them corresponding to sera with reactivity above the optimized cut-offs in gB ELISAs. Screening for BoHV2 antibodies among 287 singleton reactors (215 herds from 48 departments) revealed a prevalence rate of 89.8 % at the herd level, whereas a between-herd prevalence of 54 % was estimated by using the aforementioned collection of field sera. Moreover, reactivity of sera from BoHV2 seropositive animals was significantly increased in BoHV1 ELISA tests, except gE ELISA. Altogether, these results provided suitable analytical strategies to limit the occurrence of false-positive BoHV1 reactions and inappropriate withdrawal of the BoHV1-free status, without alteration of diagnostic costs and reliability of eradication programs.

P69

Caractérisation génétique d'une collection de perhabdovirus isolés en France

Laurane Pallandre, Claudette Feuvrier, Françoise Pozet, Laurent Bigarré
Agence de sécurité sanitaire des aliments (Anses), Technopole Brest Iroise, Plouzané, France
 <laurent.bigarre@anses.fr>

Les perhabdovirus PRV (Perch rhabdovirus) et LTRV (*Lake trout rhabdovirus*) constituent une menace sanitaire pour l'élevage des percidés (*Perca fluviatilis* et *Sander lucioperca*) en Europe. Les méthodes de diagnostic moléculaire restent encore peu développées et les études de diversité virale peu nombreuses. En se focalisant sur le gène de la nucléoprotéine (N), nous avons caractérisé au niveau génétique une série de virus isolés sur culture de cellule en France depuis 1999. Les gènes N de 13 nouvelles séquences et d'autres séquences de PRV et LTRV préalablement décrites dans les bases de données ont été comparés entre eux. Les niveaux d'identité nucléique varient entre 68,4 et 98,5 %. Trois nouveaux isolats montrent des dif-

férences marquées avec les séquences types PRV et LTRV. Les isolats 18-203 et 18-206 sont quasi-identiques entre eux mais montrent des identités maximales de 82,7 % avec un variant du LTRV, tandis que l'isolat 18-193 présente une identité maximale de 88 % avec un isolat précédemment décrit (N4925) et seulement 75 % et 70 % avec le PRV et le LTRV. Ce sont donc au moins 4 clusters génétiques qui se distinguent dans un arbre phylogénétique : le LTRV, le PRV, le cluster N4925/18-193 et le cluster représenté par les virus 18-203 et 18-206. Cette forte diversité génétique est un défi pour le diagnostic moléculaire, d'autant que les virus circulent rapidement entre les régions *via* le commerce d'hôtes. En tenant compte des différences et similarités des 4 groupes génétiques, nous avons choisi 4 couples d'oligonucléotides discriminants, utilisables en PCR conventionnelle. Les tests préliminaires sur de l'ARN viral purifié de culture cellulaire et mélangé ou non à de l'ARN total de perche montrent des signaux aux tailles attendues (330, 384, 430 et 507 bp) pour chacun. Ces cPCR devraient être utiles pour tester la présence de perhabdovirus dans les futurs épisodes de mortalités de percidés en Europe.

P70

Diagnostic des infections à entérovirus au laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux. Revue des cas de novembre 2016 à octobre 2017

Camille Ciccone¹, Camille Tumiutto¹, Jessica Cros-Labrit¹, Cécile Juillard¹, Hugo Boijout¹, Cécile Loraux¹, Didier Neau², Marie-Edith Lafon¹, Pantxika Bellecave¹

¹ *Laboratoire de virologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux France*

² *Service des maladies infectieuses et tropicales CHU Bordeaux, Bordeaux, France*

<marie-edith.lafon@chu-bordeaux.fr>

<pantxika.bellecave@chu-bordeaux.fr>

Les entérovirus (EV) non poliomyélitiques possèdent un large spectre de manifestations cliniques allant de formes bénignes à des formes neurologiques sévères. Leur diagnostic virologique spécifique repose sur la détection de l'ARN des EV dans le liquide céphalo-rachidien (LCR), les selles et d'autres liquides biologiques. Notre objectif fut d'évaluer l'activité de diagnostic des infections à EV au laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux durant la période novembre 2016-octobre 2017. L'intérêt de ce travail était d'effectuer une revue de tous les cas positifs et d'analyser différents critères cliniques et biologiques. Le diagnostic de l'infection à EV était réalisé par une méthode de RT-PCR en temps réel sur système Smart Cycler Cepheid de façon bi-hebdomadaire. Le nombre de demandes effectuées était relativement stable au cours de l'année étudiée. En revanche, la fréquence de positivité de la PCR EV est passée de 2,1 % en janvier 2017 à 39,1 % au mois de juillet 2017 au pic de l'épidémie estivale. Concernant les populations touchées, les résultats indiquent qu'aucune catégorie de la population n'est épargnée par l'infection. En revanche, la catégorie des nouveau-nés et nourrissons apparaît comme étant la plus touchée avec 50,7 % des cas d'infections. Le prélèvement le plus fréquemment positif au laboratoire était le LCR dans 75 % des cas, le quart restant étant constitué des prélèvements de selles, écouvillons cutanéomuqueux et pharyngés et du plasma. Concernant la biologie du LCR, 50 % des numérations présentaient une cellularité normale (inférieure à 30 éléments) dans la population des nouveau-nés tandis que ce pourcentage atteignait 20 % dans le reste de la population (cellularité inférieure à 5 éléments). Par conséquent, la numération ne constituait pas un indice suffisant dans l'élimination du diagnostic de méningite à EV. D'un point de vue clinique, les patients présentaient dans 86 % et 65 % des cas de la fièvre et des signes neurologiques respectivement. Concernant la prise en charge thérapeutique des patients, l'administration de traitements antibiotiques et symptomatiques au début du circuit de soin a été relevée. Nous avons constaté que 94 % des nouveau-nés et nourrissons présentant un LCR positif à EV avaient reçu un traitement initial comprenant des antibiotiques. D'autre part, l'arrêt de ce traitement était la conséquence, dans 30 % des cas, du résultat positif de la PCR EV toutes catégories d'âge confondues. Ainsi, le rendu du résultat de la PCR EV a un impact dans la prise en charge thérapeutique du patient et permet l'arrêt plus précoce

du traitement antibiotique. D'un point de vue épidémiologique, la période d'étude était largement dominée par les ECHOvirus à 71 %, identifiés par le CNR entérovirus (Laboratoire des CHU de Clermont Ferrand, Pr Henquell et Lyon, Pr Schuffenecker). Enfin, même si les infections à EV sont généralement rapidement résolutes et bénignes, nous avons relevé 9 cas d'infections sévères à EV durant cette période dont 1 cas d'EV-A71. Ce travail a permis de faire le point sur l'importance de la PCR EV et de son intérêt dans l'arrêt du traitement antibiotique, dans le contexte du CHU de Bordeaux.

P71

Etude de l'évolution intra-hôte en condition d'infections expérimentales, de deux souches sauvages françaises du virus Puumala

Caroline Tatar¹, Maxime Galan¹, Jean-François Martin¹, Sarah Madrières^{1,2}, Séverine Murri², Johann Vulin², Philippe Marianneau², Nathalie Charbonnel¹, Guillaume Castel¹

¹ Centre de biologie pour la gestion des populations (CBGP) Cirad UMR55, Université de Montpellier : UMR1062, IRD, UMR1062, Institut national d'études supérieures agronomiques de Montpellier, INRA : UMR1062, Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques, Montferrier-sur-Lez, France

² Unité virologie (Anses), Lyon, France
<guillaume.castel@inra.fr>

En France, la néphropathie épidémique (NE) causée par l'orthohantavirus Puumala (PUUV), a connu une expansion géographique au cours des dernières années. Nous avons mis en évidence des différences régionales épidémiologiques concernant la circulation de PUUV dans les populations de son hôte-réservoir, le campagnol roussâtre, associée ou non à l'existence de cas humains. Des zones endémiques (Ardennes : cas humains et circulation de PUUV chez l'hôte-réservoir) et péri-endémiques (Loiret : cas humain sporadiques et circulation de PUUV chez l'hôte-réservoir) ont ainsi été identifiées. Au cours de différentes études, nous avons également constaté à partir de l'analyse du génome des souches isolées, qu'il existe en France une importante diversité génétique inter-régionale de PUUV. Cette diversité pourrait expliquer, au moins en partie, les différences régionales de statut épidémiologique observée pour la NE en France. Pour explorer cette hypothèse, il est nécessaire de comprendre plus précisément les mécanismes évolutifs qui en sont à l'origine (vitesse d'évolution, niveaux de diversité intra-hôte, sélection, rôle du système immunitaire de l'hôte). Dans ce cadre, nous avons étudié l'évolution de la diversité virale intra-hôte de PUUV chez son hôte au cours d'infections expérimentales croisées de campagnols roussâtres sauvages par deux souches de PUUV (région des Ardennes et région du Loiret) récemment isolées. Nous avons comparé l'évolution de cette diversité génétique intra-hôte de PUUV au cours du temps, dans différents organes et excréments, en fonction de l'origine géographique des campagnols et des souches virales. Nous avons adapté une approche de séquençage haut-débit d'amplicons de virus sur MiSeq (Illumina) afin de caractériser les mutations dans les différentes régions génomiques et d'en estimer précisément les fréquences. Les mutations de type SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) sont validées à partir de nombreux répliques techniques et contrôles internes, qui permettent d'éliminer les variants liés à des erreurs de séquençage. Nous avons ainsi montré la coexistence de variants viraux intra-hôte pour les deux souches virales (détection de plusieurs SNPs associés à des fréquences importantes variant entre 5 et 20 %). Nous avons observé des différences importantes dans les niveaux de diversité intra-hôte des souches virales (inoculum) issues des différentes régions considérées dans notre étude, la souche issue de la région Ardennes (endémique) présentant une diversité plus importante que celle de la région du Loiret (péri-endémique). Ces expériences lèvent un verrou important compte-tenu de la difficulté d'étudier jusqu'alors la génétique intra-hôte des orthohantavirus, de par les faibles charges virales présentes dans les prélèvements de rongeurs. Ces premiers résultats vont également dans le sens d'un lien entre l'importance de la diversité virale intra-hôte et l'épidémiologie de la NE.

P72

Des cicatrices sérologiques de pathogènes zoonotiques chez des animaux domestiques en Guinée

Bakary Doukouré¹, Cécile Troupin¹, Alimou Camara¹, Martin Groschup², Noël Tordo¹

¹ Institut Pasteur de Guinée (IPGui), Conakry, Guinée

² Friedrich-Loeffler-Institute, Institute of Novel and Emerging Infectious Diseases, Greifswald-Insel Riems, Allemagne
<cecile.troupin@pasteur.fr>

L'épidémie sans précédent de fièvre hémorragique à virus Ebola (EBOV) qui a effrayé l'Afrique de l'Ouest et le Monde de 2014 à 2016 a démontré l'extrême faiblesse des systèmes de santé dans la région, l'urgence nécessitant de les améliorer ainsi que le besoin de recueillir des informations fiables sur les risques zoonotiques dans les pays concernés. Dans un tel contexte l'Institut Pasteur de Guinée (IPGui), en collaboration avec le Friedrich Loeffler Institute (FLI, Greifswald, Allemagne) a entrepris une campagne de prélèvements à l'échelle de la Guinée ; de 2016 et 2018, des prélèvements de sang ont été effectués sur différents animaux domestiques, tels que les porcs (n = 523), les moutons (n = 249), les chèvres (n = 177) et les bovins (n = 188). Afin d'avoir un aperçu des maladies zoonotiques circulant sur le territoire, des pathogènes (virus et bactéries) ont d'abord été recherchés par une approche sérologique (test ELISA). De façon surprenante, alors que la brucellose est décrite comme circulant activement en Afrique sub-saharienne et en Guinée, tous les sérums testés (n = 550) se sont révélés séronégatifs. De même, malgré la circulation connue du virus de la fièvre de la vallée du Rift (RVFV) dans la sous-région, nous n'avons détecté que quelques bœufs séropositifs, les moutons et les chèvres testés étant séronégatifs. Des résultats de séroprévalence plus substantiels ont été obtenus avec la bactérie *Coxiella burnetii*, agent causal de la fièvre Q (24 % des bovins, 3,5 % des chèvres, 1 % des moutons) et surtout avec le virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHFV ; 92,8 % des bœufs, 30,4 % des chèvres, 42,8 % des moutons). Les sérums correspondants sont en cours d'analyse par séro-neutralisation. De manière intéressante, la séroprévalence varie suivant les zones géographiques et les femelles semblent systématiquement plus susceptibles à ces 2 pathogènes (fièvre Q, CCHF) que les mâles. Des résultats de séropositivité intéressants ont aussi été obtenus chez les porcs où semblent circuler le virus de l'hépatite E mais aussi des Filovirus dont la parenté avec le virus ayant provoqué l'épidémie récente reste à investiguer. L'ensemble de ces résultats souligne l'intérêt de la surveillance des populations animales domestiques comme outil d'alerte et de prévention des maladies zoonotiques.

P73

Preuves sérologiques de la circulation d'Ebolavirus chez les porcs en Guinée

Alimou Camara¹, Cécile Troupin¹, Kerstin Fischer², Juliet Jabaty³, Roland Suluku⁴, Sarah Fehling⁵, Thomas Strecker⁵, Martin Groschup², Noël Tordo¹, Sandra Diederich²

¹ Institut Pasteur de Guinée (IPGui), Conakry, Guinée

² Friedrich-Loeffler-Institute, Institute of Novel and Emerging Infectious Diseases, Greifswald-Insel Riems, Allemagne

³ Sierra Leone Agricultural Research Institute, Teko Livestock Research Centre, Makeni, Sierra Leone

⁴ Njala University, Serology and Molecular Laboratory, Bo, Sierra Leone

⁵ Institute of Virology, Philipps University of Marburg, Marburg, Allemagne

<cecile.troupin@pasteur.fr>

Depuis leur découverte en 1976, les filovirus ont provoqué de nombreuses épidémies de fièvre hémorragique sévère chez l'homme et d'autres primates. Entre 2014 et 2016, une épidémie de fièvre à virus Ebola sans précédent est apparue pour la première fois en Afrique de l'Ouest, principalement en Guinée, Sierra Leone et Libéria, faisant plus de 11 000 décès. Il existe des preuves moléculaires et sérologiques d'une origine zoonotique des filovirus chez les animaux sauvages. En ce qui concerne les

animaux domestiques, les porcs ont été identifiés comme hôtes susceptibles à l'Ebolavirus Reston (RESTV), dont la transmission à l'homme a été signalée aux Philippines. De plus, dans les conditions expérimentales, il a été démontré que les porcs étaient sensibles à l'infection par l'Ebolavirus Zaïre (EBOV). Afin d'analyser le rôle potentiel des porcs dans le cycle de transmission des Ebolavirus, des échantillons de sérum de porc ont été collectés en Guinée de 2017 à 2018. Les zones fortement touchées par l'épidémie 2014-2016 ont été particulièrement ciblées, notamment celles en contact avec la faune sauvage. La présence d'anticorps spécifiques anti-EBOV a été recherchée dans 308 sérums porcins échantillonnés en 2017 à l'aide d'une technique d'ELISA indirecte basée sur la nucléoprotéine (NP) de l'EBOV (isolat Mayinga). Les 19 sérums positifs (6,2 %) ont ensuite été soumis à des tests de réactivité croisée par Western Blot contre la NP d'autres Ebolavirus : 12, 4 et 13 d'entre eux ont réagi, respectivement, avec la NP de Zaïre (EBOV), de Sudan (SUDV) et de Reston (RESTV). Trois échantillons ont également détecté la glycoprotéine (GP) de EBOV ou SUDV dans un test d'immunofluorescence indirecte en conditions natives. Enfin, un test de neutralisation contre le virus EBOV (isolat Mayinga) a révélé 5 sérums faiblement neutralisants avec des titres moyens compris entre 1:8 et 1:16. Comme récemment publiés pour des échantillons de Sierra Leone (Fischer *et al*, *J Infect Dis*, 2018), nos résultats confirment la circulation d'Ebolavirus antigéniquement apparentés mais non identiques à EBOV chez le porc en Afrique de l'Ouest. Leur pouvoir pathogène ainsi que leur potentiel zoonotique restent cependant à explorer.

P74

Étude comparative de la dynamique d'infection du virus Puumala chez son hôte en France

Sarah Madrières^{1,2}, Séverine Murri¹, Johann Vulin¹, Nathalie Charbonnel², Guillaume Castel², Philippe Marianneau¹

¹ Laboratoire de Lyon, Unité virologie, Anses, Lyon, France

² Centre de biologie pour la gestion des populations (CBGP), Cirad : UMR55, Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques : UMR1062, INRA : UMR1062, Université de Montpellier : UMR1062, IRD : UMR1062, Montferrier-sur-Lez, France
<sarah.madreries@anses.fr>

Le virus Puumala (PUUV) est le principal orthohantavirus circulant en France et l'agent étiologique de la néphropathie épidémique (NE), forme atténuée de fièvre hémorragique à syndrome rénal (FHSR) chez l'homme. Son réservoir unique et spécifique est le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*), un rongeur forestier présent sur l'ensemble du territoire français, excepté la côte méditerranéenne. PUUV peut être transmis entre les rongeurs soit par morsures *via* la salive (voie directe), soit par inhalation d'aérosols produits à partir des urines et fèces de campagnols infectés (voie indirecte). Chez l'homme, le virus est principalement transmis par voie indirecte (à partir des excréta de campagnols roussâtres infectés). En France, une centaine de cas de NE est recensée en moyenne chaque année uniquement dans le quart nord-est du pays (données CNR Hantavirus). La situation épidémiologique de la NE et la distribution de PUUV dans les populations de rongeurs sont très hétérogènes. Ces données permettent de distinguer des zones dites endémiques, telles que les Ardennes, (circulation de PUUV dans les populations de rongeurs et nombreux cas de NE) et des zones péri-endémiques, comme le Loiret (circulation de PUUV dans les populations de rongeurs et peu de cas de NE). Notre étude vise à étudier la dynamique et l'évolution de PUUV au sein de son réservoir dans ces deux régions françaises épidémiologiquement différentes afin de mieux appréhender les risques d'extension de la NE en France. Dans ce contexte, deux approches complémentaires sont combinées. La première, réalisée au cours de la première partie de ma thèse et centrée sur des études virologiques, consiste à réaliser des infections expérimentales croisées par la souche Puumala Hargnies/2011 (région des Ardennes) et Puumala Vouzon/2014 (région autour d'Orléans), récemment isolées au laboratoire, sur deux populations de campagnols roussâtres sauvages issues de ces mêmes régions. Ces expériences permettront, par des analyses de qRT-PCR et de sérologie, d'étudier la distribution du virus dans les différents tissus et cel-

lules du campagnol et la réponse immunitaire développée par le réservoir. Une seconde étude phylogénomique, réalisée en deuxième partie de thèse, aura pour but d'analyser l'évolution génétique intra-hôte de PUUV au cours de l'infection par des techniques de séquençage haut-débit.

P75

Isolement et caractérisation de 2 souches françaises du virus Puumala

Séverine Murri¹, Johann Vulin¹, Sarah Madrières^{1,2}, Guillaume Castel², Nathalie Charbonnel², Philippe Marianneau¹

¹ Laboratoire de Lyon, Unité virologie, Anses, Lyon, France

² Centre de biologie pour la gestion des populations (CBGP) Cirad : UMR55, Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques : UMR1062, INRA : UMR1062, Université de Montpellier : UMR1062, IRD : UMR1062, Montferrier-sur-Lez, France
<johann.vulin@anses.fr>

Le développement de nouveaux outils moléculaires très performants a permis d'accroître et d'approfondir les connaissances sur les Orthohantavirus. Ainsi, communément retrouvés chez les rongeurs, ils ont également été détectés chez des soricomorphes et des chiroptères. De plus leur répartition géographique s'est agrandie puisque de nouveaux virus ont été détectés dans des régions jusque-là considérées comme indemnes. Néanmoins malgré cette avancée en biologie moléculaire, très peu de souches virales sont encore disponibles. En effet l'isolement de ces virus, à partir de prélèvements infectés, du fait entre autres d'une virémie basse, est souvent délicat ou échoue. De même, les cultures *in vitro* des Orthohantavirus sont lentes et peu efficaces, et les titres viraux sont généralement faibles. C'est particulièrement le cas pour le virus Puumala, responsable de la néphropathie épidémique et dont le réservoir est le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*). Cet Orthohantavirus circule principalement en Europe occidentale, baltique, Scandinavie et Russie. En France, il a été identifié dans les années 80, néanmoins aucune souche française n'a encore été isolée. Au cours de ce travail, nous avons testé de nouveaux schémas d'isolements à partir de broyats de poumons de campagnols infectés. Pour cela, nous avons repris les échantillons de 2 campagnes de captures, l'une réalisée dans une zone endémique (région des Ardennes), et la seconde dans une zone péri-endémique (région autour d'Orléans). Le choix des échantillons a été réalisé à partir des données sérologiques et des résultats de qRT-PCR selon des critères précis et novateurs qui permettent de sélectionner les échantillons en phase précoce de la virémie. Les isolements ont été réalisés sur cellules Vero E6 avec plusieurs conditions en parallèle. Nous avons ainsi obtenu les 2 premières souches françaises appelée Puumala Hargnies/2011 (pour l'isolat issu de la région des Ardennes) et Puumala Vouzon/2014 (pour celui issu d'une zone de capture autour d'Orléans). Nous avons ensuite comparé les cinétiques d'infection de ces deux souches sur deux lignées cellulaires permissives les cellules Vero E6, lignée communément utilisée pour les Orthohantavirus et les cellules Mygla AEC-B6, lignée de cellules alvéolaires isolées à partir de poumons de *Myodes Glareolus* (collaboration avec le FLI). Les résultats de ces cinétiques montrent des différences notables dans la dynamique de la réplication entre ces 2 souches. Ces différences pourraient être impliquées, en partie, dans l'hétérogénéité des situations épidémiologiques observées dans les différentes régions françaises.

P76

Mollivirus Kamchatka : a second representative of the mollivirus family provides better insights into molliviridae evolution

Eugène Christo-Foroux, Audrey Lartigue, Jean-Marie Alempic, Sébastien Santini, Matthieu Legendre, Jean-Michel Claverie, Chantal Abergel

Information génomique & structurale, CNRS, UMR7256, AMU, Marseille France

<eugene.christo-foroux@igs.cnrs-mrs.fr>

In a context of global warming, deep investigations of viruses retaining their infectivity in prehistorical permafrost layers led to the discovery

in 2015 of a 30,000-year-old fourth type of giant virus, *Mollivirus sibericum*. Since then, no other isolates were described. The assessment of the infectious threat contained in Russian soil is still an ongoing project. The analyses of modern samples from the Kamchatka region using both metagenomic approach and giant virus reactivation experiments allowed us to sequence 15 metagenomes and isolate a new virus called *Mollivirus Kamchatka*. These two combined approaches permit a reliable appraisal of the residual infectious threat of both bacterias and DNA viruses contained in the melting permafrost. Thanks to those results, we can already confirm that the *Mollivirus* family has not gone extinct and has expanded at least across the Russian Federation. Those two representatives of these *Acanthamoeba*-infecting large DNA viruses family are showing a similar nucleo-cytoplasmic replication cycle as previously described for *Mollivirus sibericum*. Virions display a characteristic spherical shape $\sim 0.6 \mu\text{m}$ in diameter respectively enclosing a 648-kb to 651-kb fully syntenic GC-rich genome. Genetic features display 495 predicted proteins for *Mollivirus sibericum* and 480 proteins for *Mollivirus Kamchatka* of which an average of 62 % are family-specific ORFs. A short list of 54 strain specific genes shows recent horizontal gene transfers between *Mollivirus* and *Pandoravirus* family as well as protein-coding genes without known homologs. Extending the gene creation hypothesis among giant *Pandoravirus*' genomes we suggest that such mechanisms are also ongoing within the *Mollivirus* family. With 396 orthologous genes without paralogs exhibiting an average of 92.7 % identity on the peptidic level we evaluated the selection pressure, expressed as the ratio of nonsynonymous to synonymous mutations for various categories of genes. So far, results suggest that most of the genome is under negative/purifying selection and must have thus significantly contributed to virus' fitness over the last 30,000 past years. To discuss the relevance of the current classification of those two families, we targeted 84 core genes shared by both *Mollivirus* and *Pandoravirus*, and tried to implement our study with a molecular clock.

P131

« Grippe bovine » à Mayotte : mise en évidence de nouveaux éphémérovirus (Rhabdoviridae) dans les cheptels infectés

Laurent Dacheux¹, Laure Dommergues², Youssouffi Chouanibou², Lionel Doméon³, Christian Schuler⁵, Simon Bonas¹, Dongsheng Luo^{1,4,5}, Corinne Maufrais⁶, Catherine Cetre-Sossah⁷, Eric Cardinale^{7,8}, Hervé Bourhy¹, Raphaëlle Métras⁷

¹ Institut Pasteur, *Lyssavirus Epidemiology and Neuropathology Unit, Paris, France*

² GDS Mayotte, *Coopérative agricole des éleveurs mahorais, Coconi, Mayotte*

³ *Clinique vétérinaire de Doméon/Schuler, Mamoudzou, Mayotte*

⁴ *Wuhan Institute of Virology CAS Key Laboratory of Special Pathogens and Biosafety, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, Chine*

⁵ *University of Chinese Academy of Sciences, Pékin, Chine*

⁶ *Institut Pasteur, Bioinformatics and Biostatistics Hub, Paris, France*

⁷ *UMR Astre (Astre) CIRA, Sainte-Clotilde, La Réunion, et Univ. Montpellier, France*

⁸ *Contrôle des maladies animales exotiques et émergentes (CMAEE) Cirad UMR15, INRA Montpellier, France*

<laurent.dacheux@pasteur.fr>

Le genre *Ephemerovirus* regroupe différentes espèces virales au sein de la famille des *Rhabdoviridae*, dont le prototype est le virus de la fièvre éphémère bovine (BEFV). Ces virus partagent une structure génomique commune (long génome à ARN négatif simple brin de complexité élevée) et infectent essentiellement les ruminants après transmission par des arthropodes vecteurs, induisant la fièvre éphémère bovine (BEF) ou « fièvre des trois jours ». Le virus BEFV est l'agent étiologique majeur de cette maladie, qui touche les zones tropicales et subtropicales en provoquant une perte économique chez les éleveurs de bétail par diminution de la production lactée, baisse de la fertilité des animaux, avortements, voire

décès chez les adultes. Cette maladie, originaire d'Afrique, a été largement étudiée en Asie, en Australie et au Moyen-Orient où elle circule de façon endémique. Cependant, très peu d'information reste disponible sur sa circulation en Afrique même et dans les îles de l'océan Indien, ainsi que sur l'étude génétique des virus qui y sont associés. A Mayotte, île française située dans l'océan Indien, près de Madagascar et de l'archipel des Comores, un syndrome qualifié localement de « grippe bovine » et sans agent étiologique identifié a été décrit de façon saisonnière depuis 2009 dans le cheptel bovin, associant anorexie, écoulement nasal, hyperthermie et boiterie. Au cours de notre étude, nous avons mis en évidence, dans un groupe d'animaux atteints, la présence de virus BEFV. Par séquençage à haut débit, nous avons ainsi pu caractériser le génome de ce virus, représentant ainsi les premières séquences connues de virus BEFV d'origine africaine. Par cette approche, nous avons également découvert et caractérisé génétiquement une potentielle nouvelle espèce au sein du genre *Ephemerovirus*, dénommée *Mavingoni virus* (MVGV), identifiée chez l'un des animaux malades provenant d'un troupeau déjà infecté par le virus BEFV. Ces résultats démontrent ainsi la co-circulation de différents éphémérovirus au sein de l'île de Mayotte, et suggèrent très fortement que ces virus représentent les agents étiologiques de la BEF (ou « grippe bovine ») observée au sein de cette région. Cette étude souligne l'importance de la mise en place d'une surveillance active de cette arbovirose à Mayotte et dans les autres îles de l'océan Indien, voire de l'Afrique de l'Est, au regard notamment des échanges commerciaux liés au bétail existant dans cette région. Ce type d'étude permettra ainsi d'étudier la diffusion et la circulation de cette arbovirose au sein de l'océan Indien, et de mettre en place ou adapter les mesures de prévention nécessaires.

P132

Distribution de la circulation des orthopoxvirus en France, 2012-2018

Fanny Jarjaval, Gaëlle Frenois-Veyrat, Hawa Timera, Laetitia Boutin, Isabelle Drouet, Estelle Mosca, Audrey Ferrier-Rembert, Olivier Flusin, Olivier Ferraris

IRBA, Institut de recherche biomédicale des armées, Service de santé des armées, Brétigny-sur-Orge, France

<fanny.jarjaval@intradef.gouv.fr>

Le virus de la variole (VARV) est le virus de la famille des *Poxviridae* le plus pathogène pour l'homme. Pour des raisons de gestion d'épidémie, la variole est une maladie à déclaration obligatoire depuis 1893. Le 8 mai 1980, l'éradication mondiale de la variole a été prononcée par l'OMS et depuis lors aucun cas nouveau n'a été enregistré. Cependant, la variole a continué de susciter des interrogations tant au plan de la conservation du virus qu'au plan de son utilisation possible à des fins bioterroristes. D'autre part, à la lumière des épidémies de monkeypox virus parallèlement à la baisse de l'immunité anti-vaccine dans la population mondiale, résultant de la cessation de la vaccination antivariolique, le champ de déclaration obligatoire a été étendu au genre *orthopoxvirus* en 2002. L'objectif du Centre national de référence Laboratoire expert *Orthopoxvirus* (CNR LE) est de diagnostiquer ces infections pour agir de façon efficiente en réponse à un potentiel d'épidémisation d'un *orthopoxvirus* (monkeypox, cowpox, camelpox). Les cas de monkeypox virus d'importation observés en Grande-Bretagne en septembre 2018 ont montré l'importance de conserver une capacité opérationnelle de surveillance des *orthopoxvirus* en France. Depuis 2012, 115 suspicions d'infections à *orthopoxvirus* ou à *parapoxvirus* ont été traitées par le CNR LE OPV. Les prélèvements proviennent de toutes les régions de la métropole à l'exception de l'Occitanie et de la Corse. Le CNR LE OPV a mis en évidence 7 cas d'infection par un virus de la famille des *orthopoxvirus*, tous en lien avec une infection par un virus de l'espèce *cowpox virus*. L'isolement viral réalisé pour 5 d'entre eux a permis le séquençage de ces souches virales et la caractérisation phylogénétique de ces dernières. Il apparaît que les souches présentes sur le territoire sont phylogénétiquement proches de la souche de référence *cowpox Brighton* et de souches isolées en France en 2001.

P135**Épidémie des virus d'hépatites A & E au Sud tunisien**

Houcine Neffati, et Jawhar Gharbi
Université de Monastir, Tunisie
 <jawhargharbi@yahoo.fr>

Background. Hepatitis A (HAV) and E (HEV) viruses are responsible for enterically transmitted hepatitis. Tunisia is reported to be of intermediate endemicity for HAV and of low seroprevalence for HEV; however, data from rural areas of South Tunisia are lacking.

Methods. Sera from 216 asymptomatic pregnant women and from 92 patients with acute hepatitis were collected between October 2014 and November 2015. Total and IgM anti-HAV immunoglobulins and anti-HEV IgG and IgM were investigated. Anti-HAV IgM-positive samples were subjected to RT-PCR targeting the VP1/2A region and sequenced. HEV IgM positive samples and all samples from acute hepatitis patients were assessed for HEV RNA.

Results. Among pregnant women (mean age 32+/-8), HAV seroprevalence was 98.6%, none presented anti-HAV IgM; HEV seroprevalence was 5.1% and three presented weakly reactive anti-HEV IgM without detectable RNA. Among acute hepatitis patients (mean age 18.5 +/- 14), HEV seroprevalence was 19.5%, none presented anti-HEV IgM, nor HEV RNA. HAV seroprevalence exceeded 90% by age 5 and acute HAV infection was detected in 20 patients (21,7%), younger than patients with other hepatitis causes (9,8 years vs. 20,4 years, p=0,004); 65% were male. Most acute HAV infections were observed in a coastal area where HAV infections represented 52% of hepatitis etiology. Phylogenetic analysis identified genotype IA strains, clustering close to previously published Tunisian sequences.

Conclusions. The present study confirmed a low HEV endemicity and evidenced a still high level of HAV circulation in Southern Tunisia, suggesting distinct dissemination patterns for these viruses.

P136**Une stratégie d'évolution expérimentale pour identifier les événements requis pour l'émergence du virus Mayaro**

Ferdinand Roesch¹, Lucia Carrau, James Weger, Marco Vignuzzi.
¹ *Institut Pasteur, Paris, France*
 <marco.vignuzzi@pasteur.fr>

Le virus Mayaro (MAYV) est responsable d'épidémies fréquentes en Amérique du Sud et dans les Caraïbes, causant la fièvre de Mayaro, une pathologie similaire à la dengue, accompagnée d'une inflammation des joints chez les malades. Si la circulation de MAYV reste encore limitée, cette situation n'est pas sans rappeler celle des virus Chikungunya (CHIKV) ou Zika (ZIKV) avant leur émergence. L'un des événements cruciaux pour l'émergence de CHIKV a été l'apparition de la mutation A226V dans la protéine E1, permettant au virus d'utiliser un nouveau vecteur pour sa dissémination, *Aedes aegypti*. Nous avons pu recréer cet événement expérimentalement, par le biais d'infections de moustiques en laboratoire, suggérant qu'il pourrait être possible de prédire l'apparition de mutations adaptatives pour d'autres arbovirus. À ce jour, l'identité du vecteur utilisé par MAYV pour sa transmission à l'homme reste incertaine : des observations initiales ont indiqué que les moustiques *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* pouvaient être infectés par MAYV, mais une étude récente de compétence vectorielle a suggéré que les moustiques Anophèles seraient de bien meilleurs vecteurs. De plus, il est possible que l'étape d'adaptation manquant à MAYV pour émerger chez l'homme soit plutôt une augmentation de la charge virale chez les hôtes infectés, ce qui

favoriserait la transmission lorsqu'un malade est piqué par un moustique. Afin d'identifier le ou les événement(s) qui conduiraient à une émergence globale de MAYV, nous avons mis en place une stratégie d'évolution expérimentale dans des modèles *in vitro* et *in vivo*. Nos résultats préliminaires ont suggéré que MAYV se réplique à des niveaux plus élevés dans une lignée cellulaire de *Anopheles gambiae* que dans les lignées de *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*. Afin d'étudier l'évolution de MAYV chez ces différentes espèces d'insectes, nous avons réalisé des passages successifs dans ces 3 lignées, ainsi que dans une lignée cellulaire contrôle. Après quelques passages, nous observons une augmentation des titres viraux dans certaines lignées cellulaires, ce qui pourrait suggérer une adaptation progressive. Nous sommes actuellement en train de séquencer ces différentes populations virales afin d'identifier de potentielles mutations adaptatives. En parallèle, nous étudierons l'évolution virale *in vivo* par le biais d'infections de moustiques et dans un modèle murin. Nous identifierons les quasi-espèces virales présentes au niveau des différents sites anatomiques, et celles capables d'être transmises à un nouvel hôte. Ce travail, combiné à un effort de surveillance et de séquençage dans les zones d'épidémies, pourra permettre de détecter de façon précoce l'apparition de mutations pouvant contribuer à l'émergence de MAYV.

P139**Caractérisation moléculaire et phylogénétique d'un virus Nipah isolé de chauves-souris Pteropus au Cambodge**

Maria Gaudino¹, Noémie Aurine¹, Julien Fouret^{1,2}, Claire Dumont¹, Marion Ferren¹, Cyrille Mathieu¹, Catherine Legras-Lachuer², Branka Horvat¹

¹ *Centre international de recherche en infectiologie (CIRI), CNRS, UMR5308, Inserm, U1111, Université Lyon 1, ENS Lyon, Univ Lyon 69007 Lyon, France*

² *Viroscan3D, Trévoux, France*
 <branka.horvat@inserm.fr>

Le virus Nipah (NiV) est un Paramyxovirus zoonotique appartenant au genre Henipavirus, responsable d'épidémies en Asie du Sud-Est, présentant une létalité entre 40 et 90 %. Ces épisodes, jusqu'ici sporadiques mais réitérés, n'ont affecté qu'un nombre limité d'individus. Néanmoins, la large distribution de son hôte réservoir, les chauves-souris du genre *Pteropus*, et la capacité de transmission interhumaine du virus lui confèrent un potentiel pandémique important. De ce fait le NiV est actuellement classé par l'OMS parmi les huit maladies et pathogènes à prioriser dans un contexte urgent de santé publique. Deux souches du NiV ont été isolées et caractérisées : Malaisie et Bangladesh. Bien qu'au Cambodge aucun cas humain d'infection par le NiV n'ait été rapporté à ce jour, le NiV a été isolé chez des chauves-souris *Pteropus lylei* à Battambang en 2003 (NiV/KHM/Battambang/Bay Damran/CSUR381). Nous présentons la première caractérisation moléculaire du génome complet de cette souche cambodgienne. Le génome complet du virus a été séquencé à l'aide d'une plate-forme de séquençage Illumina, combiné à une approche de 5' PCR RACE. Une analyse phylogénétique basée sur le génome complet et sur les 6 gènes du virus Nipah/Cambodge a été réalisée. D'après les arbres phylogénétiques, construits avec la méthode de vraisemblance maximum (*Maximum Likelihood*) le NiV/Cambodge présente une similarité remarquable avec la souche Malaisienne. Cette étroite parenté élargit à un autre pays du Sud-Est asiatique la distribution d'une souche de virus Nipah potentiellement hautement pathogène pour l'homme et capable d'infecter naturellement de nombreux mammifères. Il est donc justifié d'accroître la surveillance de NiV au Cambodge et aux pays frontaliers.